



X

ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

FONDÉES SOUS LE PATRONAGE DE **M. PASTEUR**

PAR

E. DUCLAUX

COMITÉ DE RÉDACTION

Dr CALMETTE, sous-directeur de l'Institut Pasteur ;
Dr L. MARTIN, sous-directeur de l'Institut Pasteur ;
Dr ROUX, directeur de l'Institut Pasteur ;
Dr VAILLARD, membre de l'Académie de Médecine.

QR

1

A475

v.38

1924

PER

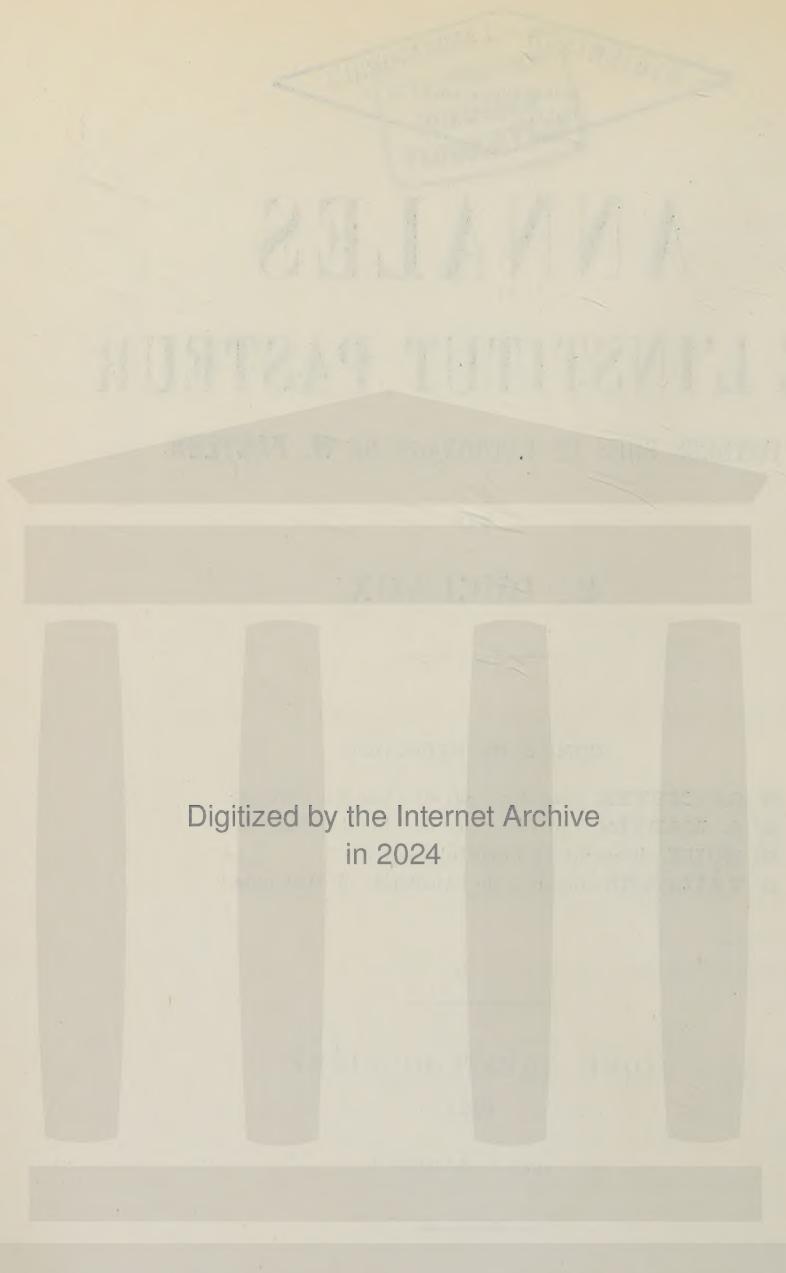
TOME TRENTÉ-HUITIÈME

1924

AVEC 8 PLANCHES

PARIS

MASSON ET C^{ie}, ÉDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADEMIE DE MÉDECINE
120, Boulevard Saint-Germain (6^e).
B.L.



Digitized by the Internet Archive
in 2024

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

SUR LA TOXINE ET SUR L'ANATOXINE DIPHTÉRIQUES

POUVOIR FLOCULANT ET PROPRIÉTÉS IMMUNISANTES

par G. RAMON.

I. — La toxine diphtérique dans la réaction de flocculation.

Ainsi que nous l'avons exposé dans un mémoire précédent, lorsque, par exemple, on met en présence dans une série de tubes à essai 20 cent. cubes d'une toxine diphtérique tuant le cobaye à la dose de 1/500 de cent. cube et des quantités décroissantes — 1 c. c. 5, 1 c. c. 2, 1 cent. cube, 0 c. c. 9, ... 0 c. c. 6, 0 c. c. 5, ... 0 c. c. 2, etc. — d'un sérum antidiphtérique frais titrant 200 unités d'Ehrlich au centimètre cube, on constate qu'après un temps variable, certains des mélanges ainsi préparés flocculent. Comme nous l'avons montré, cette action flocculante réciproque de la toxine et de l'antitoxine se manifeste en premier lieu dans le mélange dans lequel la toxine et l'antitoxine se sont aussi exactement que possible saturées. En ce qui concerne spécialement la toxine, son pouvoir flocculant peut donc être mesuré par la quantité d'antitoxine nécessaire à sa saturation, ou autrement dit par la quantité d'antitoxine qui provoque l'apparition de la flocculation initiale.

Le pouvoir flocculant pouvant être aussi facilement évalué, il était indiqué de rechercher quelles pouvaient être ses relations avec les autres propriétés de la toxine.

LE POUVOIR TOXIQUE ET LE POUVOIR FLOCULANT DE LA TOXINE DIPHTÉRIQUE. — Dosage (1). — Pour comparer le pouvoir toxique et le pouvoir floculant on peut tout d'abord suivre la production de la toxine dans le bouillon de culture. On prélève chaque jour une quantité convenable de bouillon dont on dose, après filtration, le pouvoir toxique *in vivo* par inoculation au cobaye, et le pouvoir floculant *in vitro* en présence d'un même sérum antidiphétique. On constate que, jusqu'au huitième jour, ces deux « pouvoirs » subissent un accroissement progressif : leurs courbes sont exactement superposables, si bien que l'un peut servir à titrer l'autre. A partir du neuvième jour, alors que le pouvoir toxique baisse graduellement, même si la culture reste à l'étuve, le pouvoir floculant, lui, reste stationnaire et cela pendant plusieurs semaines.

Si, au neuvième jour, c'est-à-dire au moment où le pouvoir toxique est à son maximum (2), on retire la culture de l'étuve et si, après filtration, on place la toxine dans des conditions diverses, par exemple, à des températures variées, on se rend compte par des dosages successifs, que la toxicité diminue très lentement à la glacière, lentement à la température du laboratoire, rapidement à la température de l'étuve. Par contre, dans ces conditions, le pouvoir floculant ne varie guère ; la toxine exige toujours, pour floculer, la quantité d'antitoxine qui la saturait au neuvième jour de culture ; seule, la vitesse de la réaction a une tendance à diminuer. Pendant la période d'élaboration de la toxine au sein de la culture, le pouvoir floculant peut donc servir à doser avec une précision au moins égale, sinon supérieure à l'injection au cobaye (3), le pouvoir toxique ; il peut aussi, par la suite, être utilisé pour faire connaître, pendant un temps plus ou moins long suivant les conditions de

(1) Ainsi que nous l'avons signalé dans notre premier mémoire sur la question, Nicolle, Césari et Debains mettent en évidence le phénomène de précipitation en superposant un sérum très puissant et la toxine ; ils peuvent ainsi titrer la toxine diphtérique (et téstanique) et, comme nous l'avons vu, avec une technique inverse, l'antitoxine correspondante.

(2) Voir à ce sujet le travail récent d'Abt et Loiseau sur la production de la toxine diphtérique.

(3) Nous retrouvons évidemment pour les titrages *in vivo* des toxines les mêmes inconvénients signalés à propos des dosages de l'antitoxine ; en particulier la sensibilité très variable des animaux d'épreuve. La réaction de flocculation apporte ici encore toute la supériorité d'un procédé physico-chimique sur une méthode biologique.

conservation de la toxine, non pas le pouvoir nocif « actuel », mais le pouvoir toxique maximum antérieurement atteint par cette toxine au cours de la culture (1).

Comment effectuer le dosage de la toxicité par la floculation ? Au moyen d'une technique semblable à celle mise en œuvre pour le titrage de l'antitoxine.

TECHNIQUE DU DOSAGE DU POUVOIR TOXIQUE PAR LA FLOCULATION. — Il s'agit, en premier lieu, de déterminer la quantité de doses mortelles en présence de laquelle l'antitoxine, qui doit servir aux dosages du pouvoir toxique, est capable de faire naître la floculation.

Dans ce but, préparons, par exemple, un certain nombre de tubes à essai contenant 20 cent. cubes d'une toxine qui, filtrée au huitième jour de culture, et éprouvée immédiatement, tue le cobaye de 250 grammes à la dose de 1/600 de cent. cube. Ajoutons dans ces tubes des quantités progressivement décroissantes : 2 cent. cubes, 1 c. c. 5, 1 c. c. 3, 1 cent. cube, 0 c. c. 9, 0 c. c. 6, 0 c. c. 3, etc., du sérum antidiphétique choisi en vue des titrages futurs. Supposons que la floculation initiale apparaisse dans le tube contenant les 20 cent. cubes de toxine et 0 c. c. 7 de sérum ; ces 0 c. c. 7 neutralisent par conséquent $600 \times 20 = 12.000$ doses mortelles ; 1 cent. cube du même sérum ferait donc apparaître la floculation en présence de $\frac{12.0000 \times 10}{0,7} = 17.000$ doses mortelles, ce qui correspond à une

toxine ayant un pouvoir toxique égal à $\frac{17.000}{20} = 850$ doses

mortelles au centimètre cube ; le nombre de doses mortelles correspondant à chacune des quantités de sérum supérieure ou inférieure à l'unité étant en raison directe de ces quantités, on obtiendra, en faisant les calculs, une table telle que celle-ci, qui ne vaut évidemment que pour un sérum donné (2).

(1) Rappelons que Ehrlich a constaté qu'une vieille toxine qui a perdu de son pouvoir meurtrier neutralise cependant l'antitoxine comme lorsqu'elle était fraîche, il explique ce fait par la théorie bien connue de la formation de toxine et de toxoïde.

(2) Nous aurions pu évaluer le nombre de doses mortelles en fonction de l'unité antitoxique ; mais si, théoriquement, à une unité d'Ehrlich correspondent 100 doses mortelles, pratiquement, il n'en est pas ainsi (différence entre le mélange neutre et le mélange qui tue en quatre jours, phénomène d'Ehrlich, variations plus ou moins grandes d'un laboratoire à l'autre, etc.).

DOSES DE SÉRUM ajoutées à 20 cent. cubes de la toxine dont on peut doser le pouvoir toxique	POUVOIR TOXIQUE correspondant à chaque dose de sérum lorsqu'elle provoque la flocculation initiale
1 c. c. 5 (850 × 1,5) =	1.275 doses mortelles au cent. cube.
1 c. c. 3, etc.	1.105 Id.
1 c. c. 2.	1.020 Id.
1 c. c. 1.	935 Id.
1 c. c.	850 Id.
0 c. c. 9.	765 Id.
0 c. c. 8.	680 Id.
0 c. c. 7.	595 Id.
0 c. c. 6.	510 Id.
0 c. c. 5, etc.	425 Id.
0 c. c. 2 (850 × 0,2).	170 Id.

En possession de cette table, on peut très simplement doser le pouvoir toxique d'une toxine quelconque pendant son élaboration dans la culture, ou bien être renseigné sur la valeur maximum atteinte par ce pouvoir toxique, même lorsqu'il est en voie de diminution. Il suffit pour cela de préparer un certain nombre de mélanges renfermant par exemple 20 cent. cubes de la toxine (1) à examiner et des doses décroissantes 2-1,6-1,4-1-0,9-0,8-0,2, etc., du sérum test. On ajoute les mélanges, on laisse au repos, on surveille et on note l'apparition de la première flocculation qui a lieu par exemple avec 0,8. On se reporte à la table de titrage et on lit le nombre correspondant à 0,8, soit 680 doses mortelles au centimètre cube (2).

Nous n'envisagerons pas ici les différentes modalités de la flocculation que nous avons examinées en détail à propos du

(1) Comme pour le titrage de l'antitoxine, nous additionnons la toxine, au moment de l'emploi, d'une petite quantité de formol (1 p. 2.000).

(2) Il serait peut-être plus « logique » (comme le font remarquer Nicolle et Césari, à propos du titrage des sérum-antisérum) de mettre en présence une quantité fixe d'antitoxine et des volumes variables de toxine. Mais, ici, ces volumes seraient trop différents les uns des autres, d'où de trop grandes différences également dans les volumes des mélanges d'une même série; il pourrait en résulter des troubles dans l'apparition de la flocculation et, par conséquent, une précision moindre. De plus, la technique que nous employons pour la mesure du pouvoir toxique étant la même que celle utilisée pour le dosage de l'antitoxine, il s'ensuit que, chaque semaine, nous titrons par une opération unique le pouvoir flocculant, le pouvoir antigène et le pouvoir toxique de la toxine qui nous sert au titrage hebdomadaire des sérum-antidiphthériques et à l'immunisation des chevaux producteurs d'antitoxine.

dosage de l'antitoxine. Nous dirons simplement, au point de vue du temps d'apparition de la flocculation, qu'en présence d'un même sérum, des toxines différentes (récemment filtrées) flocculent d'autant plus rapidement que leur pouvoir toxique est plus élevé; il y a, en somme, un rapport marqué entre le pouvoir toxique, la quantité d'antitoxine exigée pour flocculer et la vitesse de flocculation. Nous avons vu que, pour les sérum, il n'en est pas ainsi: deux sérum ayant la même teneur en unités d'Ehrlich flocculent souvent en des temps très différents. Ce que nous constatons ici quant aux toxines nous porte encore davantage à croire qu'il y a peut-être dans les sérum une autre qualité que n'indique pas la méthode d'Ehrlich.

LE POUVOIR ANTIGÈNE DE LA TOXINE DIPHTÉRIQUE ET SES RELATIONS AVEC LE POUVOIR FLOCULANT. — SON APPRÉCIATION. — L'appréciation du pouvoir antigène, c'est-à-dire du pouvoir de déterminer *in vivo* l'immunité et la production d'antitoxine n'est pas très facile lorsqu'il s'agit de toxine diphtérique; impossible, si l'on s'adresse aux petits animaux de laboratoire, elle ne peut guère être envisagée que si l'on a recours à de grands animaux capables de supporter des doses minimes d'abord, puis de plus en plus fortes, de toxine. Adressons-nous donc au cheval producteur de sérum antidiptérique et constituons par exemple deux lots composés d'un même nombre de chevaux en cours d'immunisation et dont l'aptitude à produire l'antitoxine est sensiblement équivalente. Injectons aux animaux du premier lot 100 cent. cubes d'une toxine qui vient d'être filtrée et qui tue le cobaye à la dose de 1/500 de cent. cube, aux animaux du second lot le même volume d'une toxine qui, au moment de sa filtration, tuait à la dose de 1/850 de cent. cube et qui, après avoir été placée quinze jours à la température de l'étuve, ne tue plus, elle aussi, au moment de l'injection, qu'au 1/500 de centimètre cube. Chacun des chevaux des deux lots reçoit donc en somme le même volume et le même nombre de doses mortelles (50.000) de l'une ou de l'autre des deux toxines qui, ainsi qu'il ressort de ce que nous avons vu précédemment, diffèrent dans leur pouvoir flocculant, la dernière ayant un

pouvoir floculant bien supérieur à celui de la première. Si l'on continue l'immunisation dans ces mêmes conditions avec un nombre de doses mortelles de plus en plus grand, 75.000, 100.000, 150.000, etc..., on constate que la teneur du sérum en unités augmente plus rapidement chez les chevaux du deuxième lot qui reçoivent la toxine ayant le pouvoir floculant le plus élevé. Si l'on multiplie les essais de ce genre, on se rend compte finalement que le pouvoir antigène ne dépend pas du pouvoir toxique « actuel », c'est-à-dire du nombre de doses mortelles injectées (1), mais qu'il va de pair avec le pouvoir floculant que possède la toxine au moment de son injection. Le pouvoir antigène d'une toxine diphtérique peut donc être facilement apprécié *in vitro* par le pouvoir floculant : il sera d'autant plus élevé que, dans la réaction de flocculation, cette toxine exigera une plus grande quantité d'antitoxine pour flocculer. Ceci va d'ailleurs être pleinement confirmé par l'étude du pouvoir floculant et des propriétés immunisantes de la toxine rendue atoxique, que nous allons envisager maintenant.

II. — Cas particulier de la toxine diphtérique rendue atoxique (Anatoxine diphtérique).

SON POUVOIR FLOCULANT ET SES PROPRIÉTÉS IMMUNISANTES. — Comme nous l'avons indiqué, nous ajoutons toujours, à la toxine qui nous sert dans nos différents dosages *in vitro*, une

(1) C'est surtout sous l'influence des idées d'Ehrlich, et de l'Ecole allemande en général, que l'on s'est mis à injecter le plus possible de doses mortelles en vue d'obtenir le maximum d'unités antitoxiques : la course aux unités a entraîné la course aux doses mortelles. Ehrlich lui-même prétend qu'avec ses « toxoïdes » il obtient seulement une diminution de la sensibilité aux toxines, un « fondement d'immunité », mais que, dès qu'il s'agit de production d'antitoxine, il faut avoir recours au poison non modifié. Ce sont les mêmes idées qui, dans une certaine mesure, ont guidé ces dernières années la plupart des essais de vaccination antidiphtérique par les mélanges toxine-antitoxine. Ici, c'est Behring qui, en instituant sa méthode de vaccination (après les travaux de Th. Smith), admet que seuls les mélanges contenant un excès de toxine peuvent conduire à l'immunité active. Aussi lui-même, et à sa suite les Américains, et nombre d'expérimentateurs, parent-ils des vaccins renfermant un excès de toxine assez fort (Behring, Bachmann et de la Barrera, etc.), ou plus faibles (les Américains Park et Zingher, etc., les Anglais, etc.); certains d'entre ces auteurs, qui utilisent ces vaccins, prétendent que l'immunité engendrée, ainsi que la production d'antitoxine, toujours lentes d'ordinaire, le sont d'autant moins que l'excédent de toxine libre est plus considérable (Rohmer et Lévy, Gostet et Ten-

minime quantité d'aldéhyde formique (1 p. 2.000, de la solution commerciale à 35-40 p. 100), dans le but d'éviter les cultures que rendraient possibles les contaminations inévitables au cours des manipulations. Or, nous nous sommes rendu compte que, si le pouvoir flocculant d'une toxine ainsi formolée et abandonnée à la température du laboratoire restait intact pendant plusieurs mois, son pouvoir nocif diminuait graduellement et rapidement (beaucoup plus vite que dans le cas d'une toxine non formolée), surtout si la température du laboratoire était un peu élevée. Mettant à profit cette observation, nous avons été conduit à augmenter sensiblement et la proportion de formol jusqu'à 3 et 4 p. 1.000 (1) et la température jusqu'à 40-42°. Dans ces conditions, en partant d'une toxine très active tuant par exemple à la dose de 1/800 de cent. cube un cobaye de 300 grammes en quatre jours, nous pouvons obtenir très rapidement un produit qui est capable de flocculer en présence de la même quantité d'antitoxine que la toxine d'origine, avec seulement un retard plus ou moins grand dans l'apparition de la flocculation, mais qui ne provoque plus, chez le cobaye, ni lésions locales, ni symptômes généraux précoce ou tardifs d'intoxication diphtérique, même à la dose de 6 cent. cubes et plus. C'est ce produit que nous nous proposons d'appeler *anatoxine* (2) *diphtérique*. Il y avait lieu de rechercher si cette *anatoxine*, injectée à un organisme vivant, est capable et dans quelle mesure de l'immuniser et de provoquer en lui la formation d'antitoxine.

Dans ce but, injectons sous la peau d'un certain nombre de cobayes 1 cent. cube d'*anatoxine*. Quinze à dix-huit jours après cette injection unique, ils résistent déjà à plusieurs doses mor-

Bokkel Hunnink, etc.). En opposition à tout ceci, nous allons montrer qu'une toxine diphtérique débarrassée de toute toxicité peut non seulement instaurer un « fondement d'immunité », mais qu'elle peut entraîner une production d'antitoxine très abondante et très rapide.

(1) Ces chiffres ne valent que pour le formol employé (les solutions commerciales d'aldéhyde formique sont assez variables comme activité) et pour une toxine donnée; il ne faut pas oublier, en effet, que le formol se fixe sur le groupe aminé de la molécule albuminoïde et que le contenu en matériaux protéiques varie d'une toxine à l'autre, suivant la nature du bouillon employé, suivant la richesse de la culture, etc. C'est pourquoi il est indispensable de régler les proportions de formol et la température par le pouvoir flocculant, comme nous allons le voir.

(2) Du grec « *ana* » en arrière, en sens inverse.

telles. Au bout d'un mois, ils supportent de 50 à 100 doses mortelles et davantage. Si, à ce moment, au lieu d'éprouver ces animaux, nous leur injectons à nouveau 1 cent. cube d'anatoxine, ils résistent alors, dix jours après cette seconde injection, à un millier et même à plusieurs milliers de doses mortelles pour les cobayes témoins. Ces chiffres paraissent encore plus démonstratifs du degré de l'immunité conférée par l'anatoxine lorsque l'on sait que l'immunisation antidiptérique du cobaye est presque impossible avec le poison diphtérique simplement dilué, difficile avec l'ancienne méthode des mélanges toxine-liquide de Gram, très lente et assez inconstante avec le mélange toxine-antitoxine.

Pour juger de la production d'antitoxine et pour en suivre commodément le développement, injectons à un cheval neuf, à sept jours d'intervalle, 4 cent. cube, puis 3 cent. cubes d'anatoxine. Cinq jours après la deuxième injection, son sérum titre déjà six unités d'Ehrlich au cent. cube, c'est-à-dire que 4 cent. cubes d'anatoxine diphtérique ont provoqué en douze jours, dans l'organisme du cheval, une telle formation d'antitoxine que 1 cent. cube du sérum de cet animal est capable de neutraliser 600 doses mortelles pour le cobaye. Si l'on continue à injecter à ce cheval des quantités d'anatoxine de plus en plus grandes, on constate une augmentation progressive de la teneur de son sérum en antitoxine ; c'est ainsi qu'après une dernière injection de 200 cent. cubes d'anatoxine, cette teneur était égale à 250 unités d'Ehrlich. Or, si à ce moment, on injecte, au lieu d'anatoxine, des quantités, faibles au début, puis de plus en plus fortes de toxine récemment filtrée et très toxique, le titre du sérum baisse d'abord, et il ne remonte à 250 unités, ou n'atteint un chiffre supérieur qu'autant que le cheval aura reçu une injection de toxine active égale ou supérieure au volume d'anatoxine injecté en dernier lieu, soit 200 cent. cubes. Ceci tendrait à prouver que, dans le cas envisagé tout au moins la capacité productive de l'anatoxine en antitoxine est sensiblement équivalente à celle d'une toxine qui a conservé toute sa nocivité (1).

(1) Nous poursuivons actuellement sur un certain nombre de chevaux l'étude de la production d'antitoxine par les injections d'anatoxine. Cinq chevaux neufs reçoivent une injection sous-cutanée de 1 cent. cube d'ana-

Par de très nombreux essais comparatifs de flocculation *in vitro* et d'immunisation *in vivo* (sur le cobaye principalement) nous nous sommes rendu compte qu'une anatoxine se montre d'autant plus immunisante qu'elle exige pour flocculer une plus grande quantité d'antitoxine. Ces essais nous ont en outre permis de constater que, de deux anatoxines flocculant en présence du même volume de sérum antidiphétique, celle qui floccule le plus rapidement possède le pouvoir immunisant le plus élevé (1). Il importe donc, si l'on veut obtenir une anatoxine possédant le maximum de propriétés immunisantes, de recourir à la réaction de flocculation, en particulier pour régler l'action des agents physiques et chimiques (2) que l'on est

toxine; neuf jours après cette unique injection, on dose leur sérum : Trois titrent déjà 10 unités d'Ehrlich au centimètre cube, un autre 15, le cinquième 20.

5 autres chevaux, neufs également, reçoivent 1/10 de cent. cube, trois jours après, 1 cent. cube d'anatoxine : huit jours après cette seconde injection l'un des sérum titré 45 unités, trois autres 20 et le cinquième 30 unités !

La différence de ces résultats avec celui de l'exemple fourni plus haut, dans le texte, tient peut-être à des variations individuelles entre les animaux, mais elle tient aussi et surtout à la différence des pouvoirs antigènes des deux anatoxines : celle qui nous a servi dans notre premier essai ayant un pouvoir flocculant inférieur à celle qui a été injectée aux dix chevaux précédents. Nous ajouterons que cette dernière était une anatoxine préparée il y a trois mois et conservée depuis à la température du laboratoire; une injection de 6 cent. cubes de cette anatoxine faite au cobaye ne décèle aucune trace de toxicité chez cet animal.

Nous terminerons en disant que nous n'avons jamais obtenu de résultats meilleurs (dans l'ensemble) que ceux que nous venons de citer, même avec des injections de quantités correspondantes de toxine fraîche très toxique, tuant par exemple le cobaye à la dose de 1/800 de centimètre cube.

(1) Ajoutons qu'une anatoxine préparée il y a six mois déjà et conservée à la glacière n'a pas varié dans son pouvoir flocculant et immunisant. Il est inutile de dire qu'elle n'a pas récupéré la moindre toxicité.

(2) Nous n'exposerons pas, pour le moment du moins, les multiples expériences que nous avons effectuées pour étudier l'action isolée ou combinée de nombreux agents physiques (lumière, chaleur, froid) ou chimiques (oxygène, iodé, substances fluorescentes, composés divers, etc.) sur les pouvoirs toxique, flocculant et immunisant de la toxine diphtérique. Jusqu'ici, même en utilisant la liqueur de Gram (Roux et Martin, Vaillard, etc.), même en opérant avec la chaleur seule (Fränkel, Roux et Yersin, etc., Vaillard, Martin-Frasey et Salimbeni pour le téton, etc.), les résultats ont toujours été, au point de vue qui nous intéresse, inférieurs à ceux obtenus par l'action combinée de la chaleur et du formol. Pourtant, à ce propos, Löwenstein, qui a préconisé la substitution des mélanges toxine tétonique-formol (exposés à la lumière ou à certains rayons) aux mélanges toxine-liqueur de Gram pour commencer l'immunisation des chevaux producteurs de sérum antitétonique, prétend que la toxine diphtérique se prête mal à l'action du formol. Aussi cet auteur et ses collaborateurs (Kassowitz, etc.), ainsi que Glenny et Sudmersen préfèrent-ils, dans leurs essais d'immunisation anti-diphétique, l'emploi des mélanges toxine-antitoxine.

susceptible de faire agir sur la toxine pour la transformer.

Ainsi l'anatoxine issue de la toxine diphtérique, dont elle peut avoir conservé les propriétés flocculante et immunisante, mais dont elle n'a plus la nocivité, peut engendrer, dans un organisme vivant, une immunité et une production d'antitoxine dont les résultats qui précédent permettent d'apprécier toute la valeur. Cette anatoxine diphtérique, dont le pouvoir immunisant sera évalué *in vitro* par la réaction de flocculation, trouve naturellement son emploi dans l'immunisation et l'hyperimmunisation des animaux. Grâce à son innocuité et au degré très élevé d'immunité qu'elle confère, elle paraît également indiquée pour la vaccination antidiphétique de l'enfant (1).

(1) L'injection, dans le tissu cellulaire sous-cutané, de 0 c. c. 25 d'anatoxine diphtérique, pratiquée sur moi-même, a déterminé une rougeur locale passagère sans aucune réaction soit locale, soit générale. Cette rougeur n'était pas plus accusée que celle provoquée par la même quantité d'anatoxine bouillie.

BIBLIOGRAPHIE

ABT et LOISEAU. Ces *Annales*, 1922, p. 535.
 BACHMANN et DE LA BARRERA. *C. R. Soc. de Biol.*, 1922, p. 1044.
 BEHRING. *Deuts. mediz. Woch.*, 1913, p. 873.
 FRANKEL. *Berlin. klin. Woch.*, 1890, p. 4133.
 GOSTER et TEN-BOKKEL HUNNINK. *Congrès de l'Association des pédiatres de langue française*, 1922.
 GLENNY et SUDMERSEN. *Journ. of. Hyg.*, 1921, p. 176.
 KASSOWITZ. *Deuts. mediz. Woch.*, 1920, p. 835.
 LÖWENSTEIN. *Deuts. mediz. Woch.*, 1921, p. 833.
 L. MARTIN-SALIMBENI-FRASEY. *C. R. Soc. de Biol.*, 1914, p. 567.
 NICOLLE et CÉSARI. Ces *Annales*, 1920, p. 150.
 NICOLLE-CÉSARI et DEBAINS. Ces *Annales*, 1920, p. 596.
 PARK. Voir en particulier *The Journ. of the Amer. med. Assoc.*, 1922, p. 1584.
 RAMON. Ces *Annales*, décembre 1923.
 RAMON. *C. R. Soc. de Biol.*, 1922, [p. 661, 711, 813. *C. R. Ac. des Sciences*, 3 décembre 1923.
 ROHMER et LÉVY. *Congrès de l'Association des pédiatres de langue française*, 1922.
 ROHMER. *Arch. de méd. des enfants*, 1923, p. 1.
 ROUX et MARTIN. Ces *Annales*, 1894, p. 609.
 ROUX et YERSIN. Ces *Annales*, 1888-1889-1890.
 TH. SMITH. *Journ. Med. Res.*, 1907, n° 2, p. 359 et *Journ. Exp. Med.*, n° 2, p. 241.
 VAILLARD. Ces *Annales*, 1892.
 ZINGHER. Voir en particulier *The Journ. of the Amer. med. Assoc.* 1922, p. 1945.

DE LA PATHOGÉNIE DU CHOLÉRA

(NEUVIÈME MÉMOIRE)

LE CHOLÉRA EXPÉRIMENTAL

par le Prof. G. SANARELLI,

Directeur de l'Institut d'Hygiène de l'Université de Rome.

(Avec les planches I et II.)

I. — Le tropisme intestinal des vibrions chez l'homme et chez les lapins adultes.

Il appert de mes mémoires antérieurs sur le choléra que les vibrions cholériques, quelle qu'ait été leur porte d'entrée dans l'organisme animal, aboutissent fatalement, par la circulation générale, au tube digestif, leur foyer d'élection. Aussi, il est indifférent de choisir telle ou telle autre voie d'introduction, pour provoquer un processus intestinal spécifique à vibrions. Mes travaux, au contraire, enlèvent toute base à la vieille opinion qui faisait de l'estomac la porte d'entrée de la contagion cholérique.

Aujourd'hui, on ne doit pas simplement envisager comme possible la production du choléra dans toute son acception clinique et anatomo-pathologique, chez les animaux aussi bien que chez l'homme, par une injection sous-cutanée de vibrions vivants. Déjà maintes fois ce cas a dû se produire à l'insu des expérimentateurs.

En effet, il est bien difficile de se soustraire à cette impression, lorsqu'on examine sans parti pris le copieux recueil de faits et d'expériences, qui se trouve dans un livre fort intéressant, et pas assez connu, de M. le Dr J. Ferran (1).

Ferran fut le premier à poser, en 1885, le problème des vaccinations anticholériques et à les pratiquer sur une grande

(1) *L'inoculation préventive contre le choléra-morbus asiatique*. Paris, 1893.

échelle, en Espagne. Malgré certaines imperfections de technique et certaines vues assez discutables, personne ne pourrait aujourd'hui contester sérieusement à Ferran le mérite de la priorité à l'égard de la vaccination anticholérique.

Ferran n'avait pas, sur la pathogénie du choléra, une conception différente de celle qui était alors admise par tout le monde. Avec la généralité, il pensait, en effet, que l'infection cholérique, spontanée ou naturelle, s'effectuait toujours par la voie gastrique (p. 91); que l'intestin était un milieu fertile pour la végétation des bacilles virgule (p. 100); que ces microbes n'étaient jamais capables de pénétrer dans les tissus et vivaient seulement dans l'intestin (p. 113); qu'ici ils digéraient les cellules épithéliales en déterminant des érosions, à travers lesquelles les produits toxiques se répandaient enfin dans la circulation sanguine (p. 87).

A vrai dire, ces prémisses une fois établies, on ne comprend pas bien comment on pouvait alors retenir capables d'une action immunisante quelconque les variations humorales provoquées par les injections hypodermiques de vaccin.

En effet, une fois admis le siège entérique des vibrions, même Metchnikoff (1) et Pfeiffer et Wassermann (2) retenaient logiquement que les vaccinations sous-cutanées ne pouvaient pas agir indirectement sur des microbes vivant dans le contenu intestinal, c'est-à-dire à l'abri de toute action directe cellulaire ou humorale.

Cependant, les vaccinations anticholériques furent alors pratiquées en Espagne sur une très grande échelle — il semble que l'on vaccina plus de 50.000 personnes — et des rapports publiés, on reçoit l'impression qu'elles résultèrent incontestablement efficaces.

Or, le vaccin anticholérique de Ferran consistait simplement dans une culture en bouillon de vibrions cholériques vivants et virulents (p. 138-139). Ferran soutenait cependant que chez l'homme, l'injection sous-cutanée était complètement inoffensive (p. 162). Mais les critiques très vives déchaînées

(1) Recherches sur le choléra et les vibrions. Ces *Annales*, 2^e Mém., 1893, p. 562, et 4^e Mém., 1894, p. 529.

(2) Untersuchungen über das Wesen der Choleraimmunität, *Zeitschr. für Hygiene*, 1893, 14, p. 46.

alors contre une telle méthode et contre son auteur provenaient aussi de l'accusation que les injections étaient capables de produire quelquefois le choléra chez les individus inoculés.

On relève en effet dans le livre de Ferran (p. 137, 155, 234, 238, etc.) que, en divers endroits, se manifestèrent chez les sujets vaccinés, peu après les injections vaccinales, des attaques même mortelles de choléra authentique. Ferran se défendit, alors, en affirmant que les vaccinés, qui tombaient malades ou mouraient de choléra dans les cinq jours successifs à la vaccination, démontraient simplement qu'ils n'avaient pas bénéficié des effets prophylactiques, parce qu'on acquérait l'immunité contre le choléra seulement cinq jours après la vaccination (p. 155).

Mais l'on doit remarquer que l'auteur déclare que « chez l'homme, on peut obtenir, par les injections hypodermiques de bacilles virgule, des effets identiques à ceux que l'on observe dans le choléra spontané » (p. 86), sans exclusion des crampes et de l'algidité (p. 88).

En outre, le même auteur à un certain point de son livre (p. 91) rapporte que, après 6-7 injections « de culture virulente », pratiquées sur lui-même, il eut « deux décharges diarrhéiques, qui constituaient une culture pure de virgules bactériologiquement identifiées »! « Le meilleur vaccin est le plus virulent — affirme-t-il ensuite à la page 296 — c'est-à-dire celui qui détermine, chez les individus inoculés, un nombre plus grand de cas de choléra expérimental » !

En quoi consistent ces cas de choléra expérimental, Ferran nous le dit aux pages 180 et suivantes de son livre, en rapportant les histoires cliniques assez détaillées de certains individus inoculés par lui, avec des vibrions vivants, sous la peau du bras. De ces exposés-là on relève que, outre les autres symptômes généraux, plus ou moins marqués, les vaccinés présentaient aussi d'abondantes évacuations diarrhéiques, des douleurs intestinales et même des crampes. Quelques rapports officiels, provoqués alors par le Gouvernement espagnol, dénoncèrent des cas, dans lesquels, après l'injection sous-cutanée de cultures pures de bacilles virgule, éclatait une symptomatologie morbide analogue à celle du choléra. Une commission

médicale, qui, alors, avait suivi et étudié soigneusement dans une localité nommée La Roda — exempte de choléra — les effets produits sur 549 individus, par l'injection de cultures de vibrions vivants (p. 222), déclare que, parmi ces effets, on a dû signaler, avec une relative fréquence, non seulement les nausées et les céphalalgies, mais aussi les vomissements, la diarrhée, les crampes aux jambes et même le délire. Dans un certain nombre de cas furent observés, en même temps, des vomissements et de la diarrhée ; dans d'autres cas la diarrhée, le vomissement et les crampes, comme dans un « tableau complet du choléra expérimental » (p. 223). Ferran même se complaisait, parce qu'il avait obtenu de réaliser « la possibilité de la cholérisation chez l'homme, comme chez les cochons d'Inde, par voie hypodermique » (p. 294). Il ne faut pas s'étonner donc, si alors on ait voulu accuser Ferran de propager le choléra par ses sujets « cholérisés » devenus semeurs de vibrions (p. 162). Il semble, en effet, qu'on signala même des cas de contagion dus à des individus vaccinés (p. 162 et suiv.).

Ferran, alors, se justifia de ces accusations avec une grande énergie, mais on doit peut-être à ces épisodes ou à ces préoccupations incontestablement impressionnantes si, pendant des années, la pratique des vaccinations anticholériques ne fit pas beaucoup de progrès.

On ne peut cependant nier que, de l'ensemble de ces documents fort précis exhibés par M. Ferran, on tire la conviction d'une action élective intestinale, exercée chez l'homme par les vibrions cholériques introduits vivants par voie parentérale.

La connaissance de ces diverses expériences chez l'homme a rendu plus facile et plus sûre la tâche que je m'étais proposée, après la constatation des faits décrits dans le mémoire précédent, à savoir la tâche de provoquer, même chez les lapins adultes, un syndrome algide, de nature vibrionienne, comparable au syndrome humain.

D'une première série de tentatives, dans lesquelles j'insistai par les injections sous-cutanées ou par l'introduction orale, je n'obtins que des résultats nuls ou très incertains.

Quelquefois, ayant injecté sous la peau ou administré par la bouche, à des lapins adultes, des cultures mixtes — à savoir

jeunes et âgées — et ayant ensuite, quelques heures après, injecté dans les veines de petites doses de colitoxine (1), j'observai des syndromes cholériformes soudains et même la mort, avec des tableaux anatomiques et bactériologiques fort intéressants.

Mais chez les lapins, animaux réfractaires au choléra, les vibrions, injectés sous la peau ou administrés par la bouche, atteignent les parois intestinales avec une irrégularité tellement déconcertante, que bientôt je me décidai à abandonner ces voies incertaines pour suivre la voie intraveineuse, plus directe et plus sûre. Pasteur agit de la même façon quand, dans le but d'abréger et régulariser la période d'incubation de la rage, et pour rendre l'incubation même plus certaine, il se décida à abandonner la voie inconstante sous-cutanée, en portant directement le virus à contact immédiat des centres nerveux, qui doivent plus tôt ou plus tard en être atteints, et sur lesquels il doit exercer son action spécifique.

Les effets des injections intraveineuses de vibrions cholériques chez les lapins ont été étudiés par divers auteurs, mais avec des résultats assez controversés.

Pas même Issaeff et Kolle (2), les derniers qui se sont occupés de cet argument particulier, réussirent à établir des données précises. En effet, ils réussissaient seulement à tuer les lapins jeunes (jusqu'à 500 grammes de poids), constatant à l'autopsie diarrhée et exfoliation épithéliale de l'intestin. Mais cette grande sensibilité des jeunes lapins à l'égard des injections intraveineuses des vibrions fut attribuée par les auteurs à la coccidiose, maladie commune à tous les jeunes lapins alors achetés sur le marché de Berlin.

Issaeff et Kolle trouvèrent, d'autre part, que les lapins adultes sont beaucoup plus résistants et supportent impunément dans les veines des doses même très fortes de cultures cholériques.

J'ai retenu nécessaire de reprendre l'étude de la question.

(1) Pour la brièveté de locution, nous appellerons colitoxine, staphylo-toxine, streptotoxine, protéotoxine, etc., de simples cultures, dans le bouillon de colibacilles, staphylocoques, streptocoques, proteus, etc., laissées à l'étuve à 37° et filtrées, au troisième jour, sur bougie Berkefeld.

(2) Experimentelle Untersuchungen mit Choleravibrionen an Kaninchen. Zeitschr. für Hygiene, 1894, 48, p. 47.

A cet égard mes expériences ont été très nombreuses, mais on peut en résumer les résultats en quelques lignes.

La façon dont se comportent les lapins qui ont reçu des vibrions dans les veines est beaucoup plus complexe qu'on ne le suppose d'après les expériences de Issaeff et Kolle. La même dose, injectée chez des lapins d'un poids à peu près égal, — j'employais habituellement des lapins de 1.500 à 1.700 grammes — peut aboutir aux résultats les plus différents. Elle peut tuer les animaux en 6, 12, 18, 24, 36, 48 heures, ainsi qu'après 5, 6, 8, 11 jours et même davantage! Quelquefois la dose mortelle, qui tue en quelques heures des lapins robustes de 1.600 à 1.700 grammes, est bien tolérée par d'autres lapins d'un poids moindre, 1.200 à 1.300 grammes. Même les doses très petites, qu'à la suite de preuves réitérées, on pourrait retenir complètement inefficaces, peuvent comporter des surprises. Parfois j'ai vu mourir en quelques heures des lapins robustes, injectés dans les veines avec une dose de vibrions dix fois plus petite que celle retenue habituellement comme dose minima mortelle!

Une étude bactériologique de tous les organes, à l'autopsie de ces lapins, nous met à même d'expliquer la singularité apparente de certains résultats. Par exemple : quand la mort se produit avec une précocité insolite et après l'injection des doses habituellement sublétale, on doit soupçonner toujours une irruption soudaine de quelque microbe de sortie — il s'agit le plus souvent du colibacille — provoquée par l'introduction des vibrions dans le sang. On trouve, en effet, dans certains cas, le colibacille, ou le staphylocoque ou le streptocoque, mêlé avec le vibrion, dans le sang ou dans les différents organes. D'autres fois, le microbe mobilisé par l'injection intraveineuse de vibrions, c'est un anaérobie, ordinairement le *B. putrificus*. Dans ces cas, le ventre de l'animal se présente, peu après la mort, fortement distendu par des gaz. Toutes les anses intestinales, diarrhéiques, dilatées par un liquide trouble et de couleur grisâtre, peuvent être considérées comme étant transformées dans une culture pure de minces bâtonnets filamentueux, qui pullulent même sous la muqueuse de l'intestin grêle.

Mais ici ils restent localisés. On n'en trouve jamais dans le sang.

Dans un cas, le microbe de sortie fut un paratyphique. L'animal avait succombé au bout de sept heures seulement, après l'injection intraveineuse de deux anses de vibrions. A l'autopsie on trouva que le bacille paratyphique avait déjà envahi le sang et tous les viscères. Les cultures dans l'eau peptonée ont révélé la présence de vibrions seulement dans le jéjunum, l'iléum et le côlon.

Les microbes de sortie, on l'a déjà dit dans le mémoire précédent, représentent une menace permanente pour tous les animaux qui ont subi, même dès longtemps, une injection de vibrions.

Même quand les lapins succombent quelques jours après l'injection intraveineuse de doses mortelles ou submortelles de vibrions, on ne peut pas exclure que la mort ait été produite d'une façon soudaine par l'irruption d'un microbe de sortie, qui, ordinairement, est un colibacille. Dans ces cas, on peut se tromper par un examen bactériologique superficiel, parce que la plupart des fois, le sang et les organes principaux résultent stériles. Mais la mobilisation du colibacille reste souvent limitée et se révèle seulement par la présence du microbe, bien qu'en quantité minime, dans le pancréas Aselli, dans les ganglions mésentériques ou sacraux, dans la rate, dans un rein, etc. N'étant pas les lésions de l'appareil intestinal telles à justifier la mort, et attendu qu'on n'est pas en présence d'une infection générale, on va songer qu'il s'agit d'un phénomène anaphylactique, déterminé, non par l'action directe des vibrions ou par la multiplication des colibacilles, mais par le réveil soudain de ces derniers et par la production immédiate de leur antigène déchaînant chez un organisme déjà préparé par l'antigène vibronien.

L'apparition dans le courant sanguin de microbes de sortie constitue la règle, même dans les cas où les lapins meurent quelques heures après l'injection intraveineuse d'une dose mortelle de culture cholérique tuée par le toluol.

Parfois, même, lorsque la mort a été très précoce, tous les organes et le sang résultent absolument stériles. Par conséquent on ne peut pas songer à des microbes de sortie. Cette stérilité du sang et des organes, dans les cas où les lapins, inoculés avec des doses léthales, meurent quarante-huit heures

après aussi bien qu'au bout de trois, quatre jours, n'a rien d'exceptionnel; elle constitue, au contraire, la règle. Mais, lorsqu'on la retrouve chez les lapins, qui succombent peu après l'injection d'une dose léthale de vibrions, on doit penser à une crise d'anaphylaxie. Souvent il s'agit de lapins qui ont des lésions pleuro-pulmonaires de nature microbienne, ou bien d'anciens foyers inflammatoires dans le foie, dus à une coccidiose ancienne. Parfois, de ces vieilles lésions hépatiques, qui en apparence semblaient insignifiantes ou déjà guéries, j'ai réussi à isoler différents microbes, parmi lesquels le colibacille, ou des microcoques.

D'autres fois, le lapin, presque aussitôt après avoir reçu dans les veines une dose sublétale de vibrions, jette un cri, se renverse, se débat et meurt! A l'autopsie on trouve quelques foyers de pneumonie, desquels on peut isoler des colibacilles ou d'autres germes.

Il s'agit, donc, d'animaux déjà sensibilisés par la présence de quelques foyers microbiens. Ils succombent rapidement à la suite de l'action déchainante expliquée par l'antigène vibrionien, qui soudainement fait irruption par la voie sanguine.

Mais il doit être extrêmement difficile de reproduire expérimentalement ces conditions particulières. Je n'y ai jamais réussi. Dans un cas, un lapin de 1.580 grammes, quelques instants après avoir reçu dans les veines quatre anses de vibrions, jeta le cri habituel, eut des convulsions et succomba. L'autopsie, pratiquée immédiatement après, révéla la préexistence de petits noyaux de pneumonie infectieuse et d'un exsudat hématif dans la plèvre et le péricarde. Il sembla logique d'attribuer la mort soudaine du lapin à un phénomène typique d'anaphylaxie. De la lésion pulmonaire, ainsi que des épanchements de la plèvre et du péricarde, et aussi de la bile, j'isolai un microbe peu pathogène, assez semblable au colibacille. Avec ce microbe je cherchai à reproduire, chez d'autres lapins, des foyers de pneumonie. J'y réussis, en effet, en faisant précéder de vingt-quatre heures l'injection, dans le parenchyme pulmonaire, de ce colibacille, par l'injection, au même point, de quelques gouttes d'une solution à 1 p. 100 d'acide lactique.

Chez ces lapins je cherchai à déclencher des accidents ana-

phylactiques par des injections intraveineuses de cultures vibroniennes. Mais toutes les tentatives restèrent vaines. Chez les lapins adultes — j'appelle ainsi les lapins qui ont atteint 1.500-1.700 grammes de poids — on constate rarement une septicémie vibronienne, même lorsqu'ils meurent après l'injection intraveineuse d'une dose mortelle de vibrions. La septicémie est, au contraire, très fréquente chez les lapins jeunes, à savoir qui n'excèdent pas le poids de 1.000-1.200 grammes. L'emploi des animaux jeunes, trop sensibles, n'est pas pourtant à conseiller dans les expériences sur le choléra, et, après les premières constatations, je les ai toujours écartés.

Alors, d'où vient que les lapins adultes, inoculés dans les veines avec des doses léthales, succombent après 2, 4, 8, 10 et même 14 jours, et à l'autopsie, le sang et les organes résultent stériles ? Ces lapins meurent simplement des suites d'une entérite : une entérite vibronienne.

En effet, ces cas, qui se produisent ordinairement, et qui ne sont pas viciés par des accidents anaphylactiques, par des tares organiques, par des exaltations de virulence soudaines ou par des invasions de microbes de sortie, etc., sont les plus remarquables, car ils rappellent complètement le tableau bactériologique, que nous avons décrit chez les cobayes, qui meurent quelques jours après une injection de vibrions dans le péritoine. Les cultures, effectuées après l'autopsie, donnent, en effet, ce résultat : stérilité du sang et des organes ; culture pure de vibrions dans la vésicule biliaire ; un amas, parfois énorme, de vibrions qu'on peut déceler par le simple examen microscopique, le long du canal digestif, lequel, d'ordinaire, se montre plus ou moins diarrhéique.

Le tropisme intestinal des vibrions se manifeste, donc, chez les lapins adultes, par la même physionomie que nous avons connue déjà chez les cobayes.

Malheureusement, l'organisme du lapin, à l'égard des vibrions introduits par voie sanguine, se comporte d'une manière assez irrégulière et différente de celle des cobayes.

A part les accidents, relativement pas rares et que nous avons déjà remarqués, les lapins, quoique choisis du même poids et de la même race, et inoculés avec la même dose de vibrions, réagissent souvent d'une façon différente.

Pour avoir une idée plus précise à ce sujet, j'ai suivi le sort des vibrions (1) injectés à dose sublétale (2-3 anses) dans les veines d'une série de lapins, qui, ensuite, étaient sacrifiés à différents intervalles. A l'autopsie, la recherche des vibrions était poussée d'une façon très méticuleuse. L'ensemble des résultats fut le suivant :

Les vibrions, aussitôt introduits dans le courant sanguin, se dirigent en grand nombre vers les parois du canal digestif. Au bout de vingt-quatre heures, ils ont, d'ordinaire, presque disparu de la circulation, et, souvent, ils se sont déjà montrés dans l'intestin, et on les trouve en grand nombre dans le contenu de l'iléum. On les isole bientôt, même du duodénum, mais alors il s'agit de vibrions de provenance biliaire. Les vibrions qui se trouvent dans la vésicule biliaire sont toujours de provenance sanguine, et l'iléum, c'est la portion intestinale où l'on constate, plus qu'ailleurs, l'excrétion des vibrions.

A ce moment, le reste du contenu du canal digestif ne renferme pas, d'ordinaire, de vibrions. Mais on ne peut pas dire de même à l'égard de la muqueuse digestive. En raclant profondément, avec une petite spatule de platine, la muqueuse du canal alimentaire, de l'estomac à l'ampoule cæcale, et en ensemencant sur gélose ou sur plaques d'Aronson, on arrive à cultiver une quantité énorme de vibrions, qui sont déjà nichés et concentrés dans les mailles de la sous-muqueuse. Au bout de quarante-huit heures, les vibrions ont complètement disparu de la circulation. Ils se trouvent, au contraire, habituellement, en grande quantité, dans les parois du tube digestif et commencent à devenir plus nombreux même dans son contenu, particulièrement au niveau de l'iléum, du jéjunum et de l'appendice. Il y a cependant des cas exceptionnels, spécialement quand il s'agit de gros lapins très robustes, chez lesquels, au

(1) Pendant les premières années de ces recherches, j'ai toujours employé le vibrio de l'Isonzo, tel qu'il avait été isolé en automne 1915 des déjections cholériques humaines et en le placant et le tenant simplement sur les milieux nutritifs ordinaires. Je n'ai jamais voulu en exalter la virulence originale au moyen du passage à travers les animaux. Comme j'ai déjà dit, la virulence et la toxicité de ce vibrio furent toujours médiocres. Chez les lapins adultes, la dose, sûrement mortelle dans les veines, était représentée par huit, dix anses normales; quatre anses pouvaient déjà être considérées comme dose sublétale; deux anses, comme dose habituellement bien supportable.

bout de quarante-huit heures seulement de l'injection intraveineuse, on n'arrive plus à déceler un seul vibrion !

Au bout de trois jours, la situation, d'ordinaire, n'a pas encore varié : stérilité du sang et des organes, présence toujours plus remarquable de vibrions dans les parois et même dans le contenu du canal digestif.

A partir du quatrième jour, le tableau bactériologique change soudainement. On ne rencontre plus de vibrions, ou bien on n'en isole qu'en faible quantité seulement au niveau de la valvule iléo-cœcale.

Même au bout de cinq jours, les constatations varient bien peu. Il semble que l'organisme cherche à se délivrer, très lentement, des vibrions qui sont nichés d'une façon particulière, dans la sous-muqueuse digestive. A ce moment il est même facile de déceler des vibrions dans la bouche : l'excrétion bucale a déjà commencé.

A part les cas d'une auto-épuration exceptionnellement précoce, c'est seulement à partir du cinquième ou sixième jour que les vibrions tendent à disparaître rapidement de l'organisme du lapin adulte. Mais il est impossible d'établir, à cet égard, des règles fixes. Même en opérant sur plusieurs animaux, en même temps, on obtient des résultats d'une irrégularité qui désoriente.

Ce qui, en somme, intéresse, c'est que les vibrions, injectés dans les veines des lapins à doses non massives et par conséquent d'ordinaire non léthales, tendent à abandonner bientôt la circulation sanguine. Ils se dirigent immédiatement vers les parois du canal digestif, les atteignent à revers. Ici ils se concentrent, se fixent, peut-être se multiplient et, si leur nombre n'augmente pas de sorte qu'il puisse déterminer une entérite aiguë ou chronique, plus ou moins violente ou mortelle, ils sont expulsés peu à peu au dehors, c'est-à-dire dans le contenu intestinal, et les animaux survivent.

Quant aux altérations anatomiques rencontrées à l'autopsie des lapins qui meurent à la suite des injections intraveineuses de vibrions, il est avant tout impossible de faire des distinctions substantielles entre ceux qui succombent aux doses léthales et ceux qui succombent aux doses habituellement non léthales.

Généralement, lorsque les lapins meurent dans les vingt-quatre heures, même avec le tableau bactériologique d'une septicémie vibronienne, la réaction intestinale est faible et insignifiante chez les jeunes, mais toujours très intense chez les adultes. Tout l'appareil digestif se montre alors énormément congestionné et rempli d'un contenu de couleur jaunâtre, parfois très fluide et parfois de consistance crèmeuse. Les parois intestinales se montrent distendues, presque amincies, dépourvues d'épithélium et en quelques endroits presque transparentes. On a, corrélativement, les signes d'une entérite très aiguë et les vibrions pullulent partout : dans le sang, les organes, le long de l'intestin. Cependant il n'y a pas d'excrétion buccale. On ne la remarque jamais dans les cas très aigus, même lorsque les vibrions se trouvent à foison dans le sang. L'excrétion orale, ainsi qu'il arrive chez les cobayes injectés dans le péritoine, est, au contraire, abondante dans les cas d'une plus longue durée.

Mais, comme je l'ai déjà dit, l'entérite aiguë, produite chez les animaux par l'élimination microbienne ou toxique, même de nature vibronienne, offre un caractère banal, particulièrement lorsqu'elle est accompagnée par un état septicémique.

On aurait tort de voir en cela une analogie quelconque avec le tableau du choléra humain. .

Cette entérite séreuse, desquamative, souvent très imposante, est parfois observée même lorsque les lapins succombent plusieurs jours après (5-8) l'injection intraveineuse de vibrions. Mais, dans ces cas, on trouve que la mort est due à l'invasion soudaine de quelques microbes de sortie, ou bien on constate dans le foie la présence de vieux foyers de coccidiose renfermant différents microbes. On est donc en présence d'une infection générale, plus ou moins intense, due au colibacille, au staphylocoque, au paratyphique, etc., ou bien encore à un choc anaphylactique. Dans les deux cas, la réaction intestinale est toujours très accentuée, parfois très imposante. Un signe immanquable, c'est la néphrite glomérulaire, avec la vessie vide ou renfermant quelques gouttes d'urine très chargée d'albumine.

On peut trouver les signes de l'entérite grave même chez les lapins, qui meurent 36-48 heures après l'injection intra-

veineuse de vibrions, et chez lesquels on constate la stérilité du sang.

Presque toujours, dans ces cas où les vibrions ont agi seuls, on trouve que ceux-ci se sont abondamment multipliés dans les parois intestinales, se répandant ensuite, et parfois en quantité imposante, dans le contenu entérique. Ici, ils constituent jusqu'à 90 p. 100 de la totalité des microbes cultivés, c'est-à-dire des colibacilles. Mais si, pour une raison quelconque, la mort des animaux survient sans que les vibrions, comme cela parfois se produit, aient eu la possibilité de se concentrer dans les parois intestinales, ou bien si la mort survient au delà du troisième jour, sans la mobilisation de microbes de sortie ou d'accidents anaphylactiques, la réaction intestinale est faible ou fait même complètement défaut.

En général, on peut dire que, lorsque la phase aiguë est passée, c'est-à-dire à partir du troisième jour après l'injection intraveineuse de vibrions, si les complications que nous venons d'indiquer ne surviennent pas, les lapins succombent en présentant un tableau abdominal toujours plus atténué ou banal.

Les signes de l'entérite aiguë, produite par la soudaine agression des vibrions seuls, ne sont pas appréciables au delà de quarante-huit heures. Quand la mort n'arrive pas, survient bientôt un état chronique, caractérisé par des formes catarrhales, lentes, diarrhéiques qui causent de l'anémie et de la cachexie et qui amènent la mort par marasme après des semaines et des mois.

Souvent, chez ces organismes émaciés et empoisonnés par le protéide vibronien, l'issue léthale est hâtée par le réveil soudain et le déchaînement de quelques microbes de sortie.

Cela est, en abrégé, le tableau bactériologique et anatomopathologique de l'infection vibronienne, produite chez les lapins par voie intraveineuse.

Quoique j'ait basé ce tableau sur plusieurs centaines d'expériences, je n'ai pas, cependant, la prétention d'avoir envisagé tous les aspects sous lesquels peut se montrer à l'autopsie et à l'examen bactériologique un processus morbide qui a des physionomies si diverses.

Mais l'ensemble de ces notions était avant tout indispensable,

afin de procéder, avec la connaissance d'un mécanisme pathogénique si multiforme, aux expériences qui visent à reproduire chez les lapins le phénomène de l'algidité cholérique, déjà réalisé chez les cobayes.

II. — L'« épithalaxie cholérique ».

Les données plus concluantes qui ressortent de cette étude sur l'infection vibrionienne produite chez les lapins par voie sanguine sont donc les suivantes :

1^o Les vibrions, introduits dans les veines, tendent à se concentrer bientôt dans les parois du canal digestif, en abandonnant rapidement la circulation générale;

2^o Chez les lapins adultes, les injections intraveineuses de 3-4 anses normales de vibrions de l'Isonzo sont d'ordinaire bien supportées;

3^o Mais lorsque, chez les lapins adultes, à la suite de l'injection intraveineuse de ces 3-4 anses, la mort survient dans un laps de temps de quarante-huit heures, on doit attribuer cette issue à une septicémie vibrionienne, ou à l'invasion soudaine de quelques microbes de sortie, ou à une crise anaphylactique provoquée par la préexistence de quelques foyers microbiens anciens, encore actifs (cas de coccidiose).

L'expérience qu'on acquiert dans ces recherches nous met toujours à même de distinguer, avec une certaine facilité, ces diverses causes de mort, surtout par un examen bactériologique soigneux, effectué à l'autopsie.

Même au sujet de la colitoxine employée pour déterminer chez les lapins la crise d'algidité, il faut rappeler d'abord quelques notions générales.

J'ai déjà dit que cette colitoxine n'est qu'une culture, en bouillon, de colibacilles, filtrée au troisième jour sur bougie Berkefeld et maintenue dans la glacière.

Le chauffage à 100° n'altère point les qualités déchaînantes de ces cultures filtrées.

Comme colibacille producteur de colitoxine j'ai toujours employé une vieille souche de laboratoire, d'origine humaine et qui s'était manifestée beaucoup toxique. J'ai voulu cependant expérimenter aussi une souche colibacillaire isolée du lapin.

Les effets des cultures filtrées de ce bacille furent identiques, dans les deux cas, à ceux des cultures filtrées du colibacille humain.

Cependant l'emploi, chez les lapins aussi, de la colitoxine par voie intraveineuse expose parfois à des surprises et à des contretemps qu'il faut d'abord connaître.

Les lapins sont bien plus sensibles que les cobayes vis-à-vis des injections intraveineuses de colitoxine. Les sujets jeunes, au-dessous de 1.400-1.500 grammes, les supportent assez mal, et, sauf exceptions, ils meurent assez facilement même à la suite de petites doses (1 cent. cube).

La colitoxine, introduite dans l'organisme par les veines, agit sur les parois intestinales *a tergo*, c'est-à-dire à revers, comme les colibacilles et leur protéide.

Chez les lapins jeunes, les doses même modérées (1-3 cent. cubes) peuvent produire une entérite aiguë, tandis que les doses inférieures produisent habituellement une entérite légère, laquelle a cependant la tendance à prendre une allure chronique, cachectisante et qui, à la longue, peut tuer l'animal par le marasme. A cause de cela, est absolument nécessaire l'exclusion de lapins jeunes de ces expériences.

Les lapins adultes — de 1.500-1.800 grammes — sont, au contraire, plus résistants. Ils supportent assez bien dans les veines des doses de 3-5 cent. cubes de colitoxine.

Mais ces doses aussi peuvent quelquefois n'être pas inoffensives. L'animal, qui paraît avoir bien supporté l'injection, à la longue maigrit, et parfois succombe au bout d'une, deux, trois semaines, etc., avec les signes de la cachexie intestinale.

On peut retenir la dose de 1-2 cent. cubes comme généralement bien tolérée, quoiqu'elle ne soit pas toujours inoffensive. Dans un cas, un lapin de 1.450 grammes succomba en quelques heures, comme foudroyé, présentant à l'autopsie un météorisme imposant, les intestins diarrhéiques, l'épiploon hémorragique, du liquide hématif dans le péritoine, le sang semblable au sirop de mûres, la vessie urinaire rétractée, renfermant quelques gouttes d'urine puriforme, laquelle, chauffée, coagula en bloc! Un bouleversement, donc, aigu et profond de tout l'organisme. Puisque les cultures du sang et des organes demeurèrent stériles, la cause de la mort soudaine sembla

d'abord inexplicable. Mais voilà que des follicules lymphoïdes du *sacculus rotundus* on cultiva d'abondants colibacilles!

Une autre fois, à la suite d'un incident analogue, on cultiva des colibacilles d'un lobe pulmonaire hépatisé.

Dans ces cas, il s'agit évidemment d'animaux déjà sensibilisés par la présence de quelques foyers microbiens actifs, dans les parois du *sacculus*, de l'appendice, dans le poumon etc. La mort survient à la suite d'un véritable choc anaphylactique, déchaîné par l'introduction soudaine, dans le courant sanguin, de l'antigène colibacillaire.

Nous ne remarquerons pas, pour être brefs, toutes les surprises que peuvent présenter les injections intraveineuses de colitoxine chez les lapins. Mais, pour les effets pratiques de ces expériences, cela est bien peu intéressant. Si le lapin vibrionisé ne succombe pas dans un laps de temps de 24-48 heures, après l'injection déchaînante de colitoxine, j'envisage l'expérience comme manquée. Or, à part des exceptions très rares, les lapins adultes, neufs et sains, même lorsqu'ils ont reçu dans les veines des doses élevées de colitoxine — 2-3 et même 5 cent. cubes — n'en ressentent les effets mortels que 4-6 jours après.

En tout cas, ces expériences exigent la circonspection la plus grande, pour l'interprétation des résultats, et aussi un ensemble de connaissances et une maîtrise technique que l'on acquiert seulement au moyen d'une longue expérience.

Toutes ces difficultés firent en sorte que, seulement après six années d'expériences, j'ose aujourd'hui résumer celles-ci et les donner comme définitives. Cela dit, nous allons maintenant décrire la manière de provoquer la crise d'algidité cholérique chez les lapins adultes.

Dans les veines marginales de deux lapins adultes, ayant le même poids — et que nous appellerons lapins A et B — on injecte quatre anses de vibrions (dose sublétale), prises d'une culture (vibrion de l'Isonzo) développée dans l'étuve pendant vingt-quatre heures. Comme on l'a déjà dit, cette dose est d'ordinaire bien supportée. On garde le lapin B comme témoin. Au bout de vingt-quatre heures on mesure la température rectale du lapin A. Elle doit être à peu près normale, et, en tout cas, peu différente de celle du témoin B, c'est-à-dire environ 38°-39°. On injecte alors au lapin préparé A et à un troi-

sième lapin C, neuf, de poids égal et que l'on choisit au même moment comme deuxième témoin, 0,5-1 cent. cube de colitoxine dans les veines.

Ordinairement le lapin vibronisé A succombe en quelques heures, parfois presque aussitôt après l'injection et parfois dans le terme de vingt-quatre heures, tandis que les lapins témoins B (simplement vibronisé), et C (neuf) survivent sans montrer aucun trouble.

Il peut même arriver que ces témoins succombent à la longue. Mais cela arrive seulement après plusieurs jours ou même après quelques mois, des suites de la cachexie intestinale.

On doit pratiquer l'injection déchaînante vingt-quatre heures après l'injection préparatoire vibronienne. A mon avis, cette période d'incubation, c'est la plus indiquée pour déterminer chez l'organisme du lapin, et particulièrement dans ses parois intestinales, l'état de sensibilisation indispensable pour mettre l'un et les autres en état de réagir par une crise violente et mortelle, qui retentit sur l'organisme entier, lors de la pénétration de l'antigène déclenchant dans la circulation sanguine.

Mais, après beaucoup d'expériences, faites dans le but de m'orienter, il m'advint parfois de voir l'explosion d'une crise impétueuse et mortelle, même à la suite d'une injection de colitoxine effectuée avant ou après ce terme de vingt-quatre heures, à savoir au bout de douze ou de quarante-huit heures après l'injection vibronienne préparatrice.

Dans les deux cas, la réaction intestinale, constatée à l'autopsie, sembla moins accentuée et la décharge intestinale des vibrions résulta très faible ou insignifiante. Les injections de colitoxine effectuées au troisième jour n'exercent aucune action. Les animaux ne réagissent plus; l'état de sensibilisation semble dépassé.

La symptomatologie de ces crises d'algidité varie un peu, suivant qu'elles surviennent d'une façon foudroyante ou tardivement.

Dans le premier cas, le lapin sensibilisé A, aussitôt qu'il a reçu l'injection de la colitoxine, ne manifeste, tout d'abord, aucun signe de malaise, et demeure, en apparence, tranquille dans sa cage. Mais au bout de trente minutes, d'une heure ou

de deux heures, il pousse à l'improviste un cri, tombe en convulsions, en dyspnée, ensuite en asphyxie et meurt, tandis que les lapins témoins (B et C) demeurent immobiles, indifférents et bien portants.

L'autopsie immédiate de ces cas foudroyants accuse dans la cavité abdominale une vaso-dilatation très marquée et la stase veineuse de tous les viscères ; le péritoine renferme souvent des coagulums sanguins, provenant d'hémorragies capillaires de l'épiploon, qui se montre énormément congestionné et hémorragique ; tout l'intestin est plus ou moins diarrhéique et congestionné ; la vessie urinaire est plus ou moins rétractée et renferme la plupart des fois quelques gouttes d'urine, dense et riche en albumine.

Les cultures avec le sang et les divers organes résultent d'ordinaire stériles, et le plus souvent même stérile se présente la bile. Seulement les cultures de l'intestin révèlent la présence de vibrions, qui sont cependant en petit nombre. Parfois ils font complètement défaut.

La décharge des vibrions dans le contenu intestinal, constatée à l'autopsie, — par l'examen microscopique et par les cultures, — résulte indépendante de la violence du choc et de la gravité du tableau abdominal. Mais, en général, on peut dire, qu'à mesure que la crise produite par la colitoxine se déroule plus foudroyante, toujours davantage diminuent les probabilités de cultiver, du contenu intestinal, une moisson abondante de vibrions.

Dans ces cas, même le flux intestinal est faible, comme cela se constate précisément dans le choléra humain.

Les cas qui ne sont pas foudroyants et que nous appellons ordinaires, c'est-à-dire ceux dans lesquels la mort survient de six à douze heures après l'injection de la colitoxine dans les veines, sont beaucoup plus intéressants et démonstratifs.

Peu après l'injection de la colitoxine, la température rectale des lapins commence à baisser rapidement : d'environ 38°, elle descend subitement à 37° ; une heure après le thermomètre marque déjà 35°7-35°5 ; elle atteint ensuite même 34° et cette température se maintient pendant plusieurs heures jusqu'à la mort.

Celle-ci survient presque toujours à l'improviste, précédée

par une période plus ou moins courte de convulsions, de contractions spasmodiques, de contorsions, de cris, d'accès de dyspnée, d'asphyxie, etc., souvent accompagnés par le regorgement de matières stomachales et par l'émission de matières fécales et d'urine.

Les accès sont souvent interrompus par des répits brefs, pendant lesquels l'animal demeure inerte, couché, très abattu et polypnée.

On assiste, en somme, à une série d'attaques, qui prennent progressivement un caractère de violence particulière jusqu'à ce que la mort survienne pendant une contraction spasmodique.

La rigidité cadavérique est prompte, puissante et dure longtemps. L'ouverture de la mâchoire, fortement fermée, exige souvent un effort considérable et le secours d'un aide.

Le tableau anatomique que l'on rencontre à l'autopsie varie beaucoup, mais dans les cas les plus typiques, qui sont généralement ceux où la mort survient 6-7 heures après l'injection déchaînante, il est d'ordinaire fort imposant, plus imposant que dans le choléra humain, qui est riche de symptômes caractéristiques, mais en général pauvre de faits anatomo-pathologiques.

A l'ouverture de la cavité thoracique des lapins on observe que les poumons présentent les signes d'une congestion passive. Leur couleur est plus foncée que normalement, parfois presque violacée : ils semblent en asphyxie. Mais, au contact de l'air, ils reprennent peu à peu leur couleur rosée, souvent même très vive.

A l'ouverture de l'abdomen, on trouve que les anses intestinales semblent revêtues par un léger enduit muqueux, dû à une desquamation intense de cellules endothéliales. Mais ce qui attire immédiatement l'attention, c'est l'aspect de tout l'intestin grêle.

Vu la façon de se comporter de l'intestin grêle dans la crise d'algidité cholérique, il est pratiquement indiqué de diviser cet intestin, chez les lapins, en quatre portions différentes. La première, représentée par la portion duodénale, de 8 à 12 centimètres environ de longueur, se montre toujours diarrhéique, à savoir remplie d'un liquide constitué d'une façon

prépondérante par du mucus coloré par de la bile. Les parois du duodénum présentent souvent de petites hémorragies ou pétéchies sous-séreuses.

La deuxième portion est formée par un long trait du jéjunum, qui a d'ordinaire une teinte rosée. Dans les protocoles de mes expériences elle est, en effet, désignée par l'expression « grèle rose ». Elle présente une arborisation vasculaire très menue, plus ou moins intense et diffuse et se montre remplie d'une matière plus ou moins diarrhéique, d'aspect crémeux, grisâtre ou jaunâtre, généralement assez dense.

Lorsque cette matière est fort abondante, les parois entériques, œdématisées, efflanquées et distendues par le contenu, présentent, de prime abord, une couleur fondamentale jaunâtre ou rosée, qui rappelle les couleurs de la pêche et de l'hortensia. Ces couleurs, généralement pâles lors de l'ouverture de la cavité abdominale, s'accentuent souvent et deviennent peu à peu plus vives et pourprées au contact de l'air. Cela signifie que les parois intestinales sont imbues par de l'hémoglobine réduite. En s'oxydant à l'air, celle-ci se transforme en oxyhémoglobine et reprend sa couleur vive caractéristique. Cela témoigne aussi qu'il y a eu destruction de globules rouges.

Le contenu entérique est représenté d'une façon exclusive par des cellules épithéliales plus ou moins déformées, par des lambeaux et des flocons de mucus, des revêtements de vilosités, des éléments conjonctifs, des culs-de-sac glandulaires, des détritus amorphes, des coagulums albumineux, etc. On n'y trouve jamais de résidus alimentaires.

La troisième portion, qui dans mes protocoles est désignée par le nom de « grèle brun », représente le trait inférieur du jéjunum et n'a pas de bornes marquées par des caractères morphologiques différenciés, de même que ces caractères n'existent pas chez l'homme entre le jéjunum et l'iléum. Mais, pratiquement, la seconde portion du jéjunum, chez le lapin cholérique, a toujours un contenu brunâtre, qui paraît très bien à travers les parois minces, lesquelles sont moins arborisées et moins colorées que le trait supérieur. Cette portion est toujours distinctement diarrhéique: son contenu est très fluide, riche de mucus, de sérosité aqueuse et de résidus alimentaires. Elle ne possède jamais un aspect crémeux, comme

la portion antécédente, et même se montre plus sensible et plus prompte que celle-ci envers les causes diarrhogènes. Les plaques de Peyer sont, d'ordinaire, simplement tuméfiées.

La quatrième portion c'est le dernier trait bref, représenté par l'iléum, qui débouche dans l'ampoule cæcale. Il s'agit de quelques centimètres d'intestin, aux parois plus robustes, qui ne se dilatent et ne s'efflancent jamais. Son contenu n'est presque jamais diarrhéique, mais dense, en petite quantité et d'un aspect fécal. Le cæcum et le côlon ne participent pas à la réaction intestinale, qui accompagne le choc cholérique. Il semble, comme l'a dit Griesinger au sujet du choléra humain, que la valvule iléo-cæcale partage en deux le processus intestinal. En effet, chez les cholériques, le gros intestin se présente parfois normal, parfois simplement hyperémique.

Cela se rencontre même chez les lapins.

Seulement dans certains cas, les parois du cæcum et du côlon résultent parsemées de petites hémorragies punctiformes, et leur contenu semi-liquide plus ou moins dense semble plus fluide, spécialement à proximité de la valvule iléo-cæcale, à cause d'une production abondante de mucus par le *sacculus rotundus*.

L'appendice aussi sécrète une grande quantité de mucus et de sérosité aqueuse. Dans certains cas, le petit boyau appendiculaire, particulièrement lorsqu'il ne contient pas des matières fécales, se montre rempli par une transsudation aqueuse, incolore, un peu louche, contenant en suspension une grande quantité de lambeaux et de flocons épithéliaux, qui donnent au liquide, prélevé au moyen d'une pipette, l'aspect caractéristique de l'« eau de riz » bien connue, du flux cholérique humain. L'identité est parfaite.

L'estomac, en apparence, prend une faible part à la crise des autres organes abdominaux. Ses parois seulement se montrent, même à l'extérieur, plus ou moins vascularisées et congestionnées.

Les lésions produites par la crise d'algidité cholérique ne se bornent pas, cependant, à l'appareil digestif.

L'épiploon est toujours très congestionné et quelquefois parsemé de petites taches hémorragiques. Le parenchyme rénal présente les signes d'une glomérulo-néphrite; même la

portion médullaire est congestionnée. La rate est toujours très petite, flasque, ratatinée et ressemble à un vermissois noirâtre. La vessie urinaire est toujours contractée et renferme une quantité minime d'une urine dense, opaque, trouble, d'un aspect purulent, très chargée d'albumine. A l'examen microscopique, celle-ci résulte une véritable bouillie de cellules et de gros lambeaux compacts de l'épithélium vésical, tombé *in toto*. Parfois il semble que l'on ait sous les yeux une raclure effective de muqueuse vésicale.

L'examen aussi de la bile révèle une exfoliation totale du revêtement épithérial des parois de la vésicule biliaire.

En somme, le bouleversement général, déclenché par l'antigène colibacillaire, qui, chez le cholérique, suspend, comme l'on sait, tous les pouvoirs d'absorption des surfaces tapissées d'épithélium, détermine, même chez les lapins vibronisés, cette constante et vraiment typique conséquence : il provoque la chute ou exfoliation soudaine, massive, totale de tous les épithéliums de revêtement des surfaces muqueuses et séreuses.

Cette desquamation totale qui, peut-être, est le phénomène le plus accusé et le plus constant, même dans le choléra humain, prend, dans l'algidité expérimentale du lapin, un caractère aussi constant et régulier. Dans le choléra humain, en effet, la chute de l'épithélium est considérée comme l'altération anatomique la plus significative de l'intestin (1).

A cause de cela, et aussi pour désigner par un seul mot compréhensif l'ensemble des phénomènes qui accompagnent l'algidité cholérique du lapin, j'ai pensé à la désigner par le mot de « épithalaxie » (ἐπιθαλαξίς = chute des épithéliums; de ἐπίθελιον = épithélium et ἀλλαξίς = chute).

L'examen microscopique des organes les plus atteints apporte un ensemble complet de documents en faveur de l'identité anatomique entre l'algidité cholérique chez l'homme et l'attaque d'épithalaxie chez le lapin.

Les organes qui, à la suite de cette attaque, résultent les plus atteints sont l'intestin et le rein.

(1) DECLoux et RIBADEAU-DUMAS, in CORNIL et RANVIER. *Manuel d'histologie pathologique*, 4, p. 634, Paris, 1912, Alcan.

L'examen des sections de l'intestin, fixées dans le formol et l'alcool, et colorées par l'hématoxyline-éosine, révèle deux lésions caractéristiques du processus : une infiltration œdémateuse du tissu conjonctif de la muqueuse et une desquamation épithéliale, qui va jusqu'à la destruction presque complète des villosités intestinales. La sous-muqueuse est encore plus œdémateuse que la muqueuse elle-même. Souvent on remarque que la muqueuse se détache de la musculaire, dont les vaisseaux sanguins se montrent toujours très dilatés. Les villosités intestinales, complètement dénudées de leur épithélium de revêtement, sont réduites à de minces moignons du chorion et presque méconnaissables, ayant perdu leur structure anatomique particulière, d'une manière presque complète.

Lorsqu'on trouve encore des villosités assez intactes, on voit que leur stroma est œdémateux et leurs vaisseaux sanguins très congestionnés.

L'épithélium au niveau des débouchés des glandes de Lieberkühn a même complètement disparu. Les culs-de-sac glandulaires gardent, en quelques endroits, leurs éléments cellulaires, quoique profondément altérés. En effet, le protoplasme des cellules de revêtement est, en grande partie, détruit ou dégénéré; les noyaux manquent ou se montrent morcelés, déformés, troubles et sans leur structure; ils se colorent uniformément ou ne se colorent point. Dans plusieurs cas, tout le cul-de-sac glandulaire est réduit à son soutien conjonctif seulement. On est, en somme, en présence d'une ruine complète de tout le revêtement muqueux du canal digestif, du pylore à l'iléum.

L'identité absolue de ces altérations avec celles décrites par tous les auteurs dans le choléra humain est incontestable.

Quant à la lésion rénale, attendu qu'elle se manifeste loin du territoire anatomique où les agents étiologiques du processus morbide agissent directement, à savoir loin de l'intestin et attendu qu'elle se produit même d'une façon soudaine et avec des caractères extrêmement graves, elle acquiert une importance toute particulière relevée par tous les savants.

On sait que tous les auteurs qui ont étudié les lésions de la néphrite cholérique (Straus, Girode, Papillon, Lesage et Macaigne, etc.) consentent à admettre que, malgré ses caracté-

tères de néphrite infectieuse ou toxique, elle n'est pas due à l'action directe des microbes.

Pendant les dernières épidémies cholériques, qui s'étaient vérifiées dans les Pouilles et à Naples en 1910, Bandi (1) a décrit des cas où la dégénération exceptionnellement intense des reins s'était produite d'une façon tout à fait foudroyante.

La néphrite cholérique qui, cependant, guérit avec une facilité surprenante, a été attribuée, pour ce motif, à l'action de l'hypothétique « poison cholérique », que d'ailleurs on n'a jamais trouvé, ni défini. La gravité de cette néphrite aiguë, même chez nos lapins, qui meurent rapidement à la suite de l'attaque d'épithalaxie, est marquée, on peut dire, par la presque vacuité de la vessie urinaire, qui le plus souvent — on l'a déjà vu — renferme seulement quelques gouttes d'urine puriforme chargée d'albumine.

Il va sans dire que les meilleures préparations seront celles obtenues avec les reins de lapins, dans la vessie desquels on n'aura trouvé à l'autopsie que quelques gouttes d'urine très chargée d'albumine.

En effet, l'examen microscopique des sections fixées par le formol et colorées par l'hématoxyline-éosine, ou traitées par une solution alcoolique de Sudan III, réactif microchimique des graisses, révèle, dans ces reins, des lésions extraordinairement graves et diffuses. Tous les tubes et les anses de Henle se montrent détruits. Leur revêtement épithéial est en grande partie déformé ou complètement détruit. Les cellules survivantes montrent les signes d'une profonde tuméfaction trouble ou de la nécrose de coagulation et ne retiennent plus les substances colorantes. En quelques endroits, les noyaux paraissent un peu moins atteints, mais en grande partie ils se montrent frappés à mort. Dans plusieurs tubes, ils ont complètement disparu ou paraissent transformés en granulations protéiques et en détritus. Même l'endothélium des glomérules est desquamé ou a disparu, et la capsule glomérulaire est souvent distendue par un exsudat albumineux. Tous les capil-

(1) Le epidemie coleriche delle Puglie e di Napoli. *Rivista critica di Clinica Medica*, 1910, nos 47-50.

laires sont énormément dilatés et en quelques endroits les lacunes intertubulaires se montrent remplies et distendues par des extravasations hémorragiques bien plus graves et diffuses que celles que l'on observe ordinairement dans les préparations de reins d'animaux tués par un choc anaphylactique de nature sérieuse. Plusieurs tubes collecteurs se montrent même remplis par des globules rouges. Pas de traces d'ins filtrations leucocytaires.

La coloration par le Sudan III, qui met si bien en évidence les nécroses graisseuses, démontre, dans tous les vaisseaux capillaires, spécialement dans les glomérules, dans tous les espaces intertubulaires, dans les exsudats amoophes renfermés par le glomérule et même dans les éléments épithéliaux des tubes, une grande quantité de granulations sudanophiles de toute dimension, disséminées ou entassées ça et là d'une manière désordonnée. L'extrême gravité de cette dégénérescence adipeuse est bien représentée par les figures annexées à ce mémoire.

En conclusion, nous sommes en présence de lésions histologiques tellement graves que, par leur intensité et extension, elles dépassent peut-être même les altérations classiques que les auteurs ont décrites, depuis longtemps, comme caractéristiques dans les reins cholériques (1).

J'ai dit que l'importance de la lésion rénale a, dans le choléra expérimental des lapins, une signification toute particulière, car elle renforce, mieux qu'on ne peut désirer, l'hypothèse que le syndrome complexe, auquel nous avons donné le nom d'épithalaxie, représente un phénomène général de nature physico-chimique analogue à l'anaphylaxie, c'est-à-dire qu'il est la conséquence vraisemblable d'une altération diffuse et soudaine de l'équilibre des colloïdes organiques.

On connaît bien, en effet, que dans les floculations anaphylactiques non seulement il y aurait un changement soudain de l'état physique du milieu plasmique ou humorale, mais le déséquilibre plasmique atteindrait même les colloïdes de constitution et les colloïdes fonctionnels des protoplasmes, pro-

(1) STRAUS, ROUX, NOCARD et THUILIER, Recherches anatomiques et expérimentales sur le choléra observé en 1883, en Egypte. *Archives de physiologie normale et pathologique*, 1884, p. 381.

duisant ainsi une véritable commotion cellulaire. Outre une anaphylaxie sanguine, il y aurait, en effet, une anaphylaxie cellulaire (1).

Comme l'on sait, le phénomène a un mécanisme intime d'action, qui n'est pas encore bien clair. Seulement ce mécanisme peut expliquer des dévastations anatomiques si impo-santes et si générales, ainsi qu'on les constate dans l'épithalaxie chez les lapins vibrionisés et, surtout, si soudaines et si profondes, ainsi qu'on les rencontre dans le parenchyme rénal.

Cette dévastation très grave et presque instantanée du parenchyme rénal serait donc produite, d'après les plus récentes doctrines colloïdales, par une flocculation protoplasmique, par une véritable gélification.

Sa réversibilité facile, pareillement à celle de certains composés colloïdaux organiques, expliquerait, en outre, la disparition rapide et complète des altérations anatomiques et des symptômes relatifs, quand la mort ne survient pas. On sait que cette disparition peut survenir avec la même rapidité de la flocculation. Cela expliquerait, aussi, le rétablissement rapide de la fonction rénale dans la période de réaction du choléra humain.

Dans les cas mortels d'anaphylaxie, la lésion rénale est, au contraire, dominante. Quelques auteurs (2) retiennent même que la mort, après l'injection déchaînante, est proprement causée par la néphrite très aiguë.

Bref, le tableau anatomo-pathologique présenté par les lapins qui succombent à la suite d'une crise d'épithalaxie ressemble de la façon la plus complète au tableau classique du choléra humain.

Même les altérations microscopiques des organes les plus atteints, à savoir les muqueuses, l'intestin et le rein, sont parfaitement superposables; elles sont peut-être plus graves chez les lapins que chez l'homme.

(1) PESCI. *Forme anafilattiche*, p. 142, 2^e édit., Milano, 1922.

(2) HARRIS BOUGHTON, Renal lesions in chronic anaphylaxis. *Trans. of the Chicago Pathol. Society*, décembre 1915. — PIAZZA, Nefrite anafilattica. *Ann. di Clinica Medica*, 8, 9, fasc. 3 et Contributo allo studio delle lesioni anatomiche nell'anafilassi, *ibidem.*, 7, 1916.

III. — Comment se comportent les vibrions dans l' « épithalaxie cholérique ».

Mais le côté le plus intéressant, dans les cas d'épithalaxie non foudroyante, c'est-à-dire de l'épithalaxie à la suite de laquelle les lapins succombent 6, 12, 24 heures après l'injection de l'antigène déchaînant, c'est le tableau bactériologique.

D'ordinaire, le péritoine, le sang et les divers viscères de ces lapins résultent stériles.

Je dirai même que, dans les cas les plus typiques et démonstratifs, le sang et les organes doivent résulter stériles, ainsi que chez l'homme cholérique.

C'est l'intestin, plus ou moins diarrhéique, qui, d'ordinaire, constitue le véritable siège des vibrions.

Ils s'y trouvent souvent en quantité énorme, même en culture pure!

Dans l'intestin aussi de lapins neufs, sacrifiés 24-48 heures après l'injection intraveineuse d'une dose sublethale de vibrions, ceux-ci, comme on l'a déjà vu dans le premier chapitre, se rencontrent en quantité plus ou moins grande. Cependant, même en faisant abstraction de tous les autres éléments, il n'est pas possible de comparer ces cas, qui ordinairement présentent un petit nombre de vibrions dans l'intestin, aux cas d'épithalaxie.

Les lapins vibrionisés, qui succombent plusieurs heures après l'injection de l'antigène colibacillaire, montrent parfois leur contenu intestinal comme transformé dans une culture pure de vibrions!

Au point de vue de leur distribution le long du canal digestif, il faut remarquer que le duodénum, nonobstant la bile qui y débouche et qui est d'ordinaire très riche en vibrions, est la portion intestinale qui en contient la quantité la plus faible.

Les vibrions se trouvent plus nombreux, parfois en quantité immense, dans la première portion du jéjunum, où l'épithélium est tombé *in toto* pour constituer la bouillie blanchâtre, crémeuse, que l'on a déjà décrite.

Dans la seconde portion du jéjunum, où plus spécialement

abonde la sécrétion muqueuse, les vibrions sont en quantité plus faible.

L'iléum est, au contraire, toujours très riche en vibrions. Même dans les cas où l'on a de la peine pour isoler des vibrions du contenu intestinal, on en trouve presque toujours dans le contenu de l'iléum.

Il faut cependant relever une circonstance particulière : tandis que l'iléum représente la portion du grêle des lapins, à travers laquelle les vibrions de préférence s'éliminent, et où la flore bactérienne est aussi plus riche, plus variée et plus constante, elle est, au contraire, la moins atteinte, même dans les cas les plus graves d'épithalaxie. Il semble que l'iléum prenne part d'une façon insignifiante ou nulle au choc général. S'agit-il peut-être d'un organe accoutumé plus que les autres à l'élimination et à l'action microbiennes ? Cette supposition serait justifiée par ce que l'on observe dans le duodénum. Le duodénum, c'est la portion intestinale qui se montre la plus sensible et la plus vulnérable dans tous les cas d'épithalaxie. Il se montre toujours diarrhéique, même dans les cas où l'autre portion du grêle paraît n'avoir pas trop réagi et souffert. Or donc, il faut se rappeler que l'excrétion microbienne à travers la muqueuse duodénale, dans les cas aussi les plus graves d'épithalaxie, chez les lapins adultes et même dans le « choléra intestinal » des lapins nouveau-nés, est insignifiante ou nulle ! Le duodénum, même chez les lapins neufs, correspond à la portion intestinale la plus pauvre en microbes. Souvent, son contenu est stérile ou presque stérile.

L'action du protéide colibacillaire, en s'exerçant de préférence sur les parois intestinales, doit aussi stimuler d'une façon directe ou indirecte la multiplication des vibrions, qui, nous allons maintenant le voir, se trouvent déjà distribués et concentrés dans le tissu conjonctif sous-muqueux ou péri-glandulaire. On ne pourrait autrement expliquer pourquoi dans certains cas leur quantité atteint des proportions numériques si extraordinaires, de manière qu'ils donnent des cultures très abondantes et très pures, même sur gélose ensemencée directement avec la pipette ou l'anse de platine.

En effet, il arrive souvent, même après avoir ensemencé un matériel abondant, d'obtenir des cultures pures aussi dans

l'eau peptonée, où l'on peut faire directement la réaction rouge. L'apparition de celle-ci exclut la présence du colibacille. Une preuve, donc, que les vibrions ont substitué, dans l'intestin, tous les autres microbes cultivables.

Certaines préparations directes, faites sur lamelles, avec du contenu intestinal et colorées par la fuchsine phénique diluée, pourraient être considérées comme obtenues avec des cultures pures, si elles ne renfermaient aussi des éléments et des détritus épithéliaux !

Il est bien difficile de trouver des déjections cholériques qui donnent des images microscopiques si riches en vibrions. Mais ces cas sont rares. Généralement, l'entérite cholérique déchaîne aussi le colibacille, qui se trouve en quantité plus ou moins abondante le long du jéjunum, de l'iléum et du cæcum.

L'examen des sections d'intestin, colorées par la fuchsine phénique à 1/10 à chaud, lavage rapide, etc., selon le procédé décrit dans le chapitre II du IV^e mémoire, donne une idée assez exacte de la distribution des vibrions dans la paroi intestinale. Ici, ils s'y trouvent, le plus souvent, disséminés dans toute l'épaisseur de la muqueuse et parfois dans la sous-muqueuse. Leur distribution n'est pas uniforme, ni régulière : en effet, on voit de véritables nids, disposés par groupes, fréquents dans certains endroits de la paroi, rares ou manquants dans d'autres. Souvent, dans la sous-muqueuse, on les trouve en quantité si grande, qu'ils arrivent au contact même des tuniques musculaires. Ils sont parsemés dans tout le chorion, mais plus particulièrement au-dessus et le long de la *muscularis mucosæ*. Ils se présentent libres et jamais phagocytés. On les voit, en outre, en quantité discrète, dans l'intérieur des glandes de Lieberkühn et je les ai même trouvés dans l'intérieur des glandes de Brunner. Cela confirme encore une fois ce que j'ai déjà dit dans le IV^e mémoire au sujet de l'excration, à travers les glandes intestinales, des vibrions arrivés, à revers, aux parois entériques.

Les vibrions ne se multiplient point dans les sucs et dans les exsudats intestinaux, et l'on doit, en conséquence, retenir que tous les vibrions contenus dans l'intestin sont plutôt d'origine pariétale. Ils se trouvent dans la cavité intestinale pour la raison qu'ils y sont expulsés et entraînés par la chute du revê-

tement muqueux entérique, qui en était complètement envahi.

Cela explique aussi les variations numériques des vibrions contenus dans l'intestin ou expulsés par les déjections, et même explique pourquoi, dans certains cas de choléra humain ou expérimental, le nombre des vibrions est extrêmement petit ou nul.

En effet, j'ai déjà décrit, d'une manière synthétique, les tableaux symptomatologiques, anatomiques et bactériologiques des cas les plus typiques et les plus complets d'épithalaxie. Mais, en expérimentant sur une grande échelle — et cela est absolument indispensable dans ce genre d'expériences — les variations, les déviations et les exceptions à l'égard de ces tableaux paraissent extraordinairement fréquentes.

Pas un des cas, on peut dire, n'est complètement égal à un autre. Si je devais m'entretenir sur toutes les particularités qui sont quelque peu intéressantes ou sur toutes les surprises, sur tous les contretemps et les tableaux, quelquefois magnifiques, suggestifs et particulièrement démonstratifs, et parfois, au contraire, pauvres et déconcertants, que de telles expériences présentent pour l'expérimentateur, je devrais rapporter, avec tous leurs détails, plusieurs centaines de protocoles patiemment accumulés pendant ces six années de travail.

Je préfère omettre complètement ces protocoles pour me borner aux descriptions d'ensemble.

Mais il est nécessaire d'ajouter que, à part les surprises et les variations de chacun des cas, lorsque les lapins ne succombent pas aux crises d'épithalaxie pendant la période habituelle, à savoir de douze à quatorze heures, et meurent, au contraire, plus tard et même au bout de quelques jours, le tableau, et spécialement le tableau anatomique résulte un peu différent.

Corrélativement à la mort plus tardive, la réaction intestinale se montre toujours plus atténuée.

En effet, lorsque la crise aiguë est passée et l'orage qui s'est déchaîné particulièrement sur les organes abdominaux a cessé, lorsque la vaso-dilatation imposante de la période d'état a disparu, surviennent des conditions comparables à l'anaphylaxie chronique, qui aboutit à la cachexie mortelle (1). Les

(1) PESCI, *Loc. cit.*, p. 144.

viscères se décongestionnent peu à peu, et à l'autopsie leur aspect, ainsi que leur couleur, peuvent paraître normaux, même plus pâles que normalement. La lésion chronique intestinale, comme on peut l'observer aussi dans le choléra humain, se révèle par du catarrhe desquamatif. Au contraire, la lésion rénale, qui est vraisemblablement causée, on l'a déjà dit, non par le protéide vibrioien, mais par la crise humorale anaphylactique, se répare avec une rapidité surprenante comme chez l'homme cholérique. On sait bien que, dans le choléra humain, lorsque survient la guérison, le rétablissement de la santé et des fonctions des organes le plus profondément atteints s'accomplit parfois avec une rapidité égale à celle de l'attaque. Les malades passent souvent, d'une façon soudaine, de l'état de maladie à l'état de santé, sans qu'il y ait la convalescence !

Même chez les lapins qui meurent au delà de vingt-quatre heures, on trouve souvent que la vessie renferme une certaine quantité d'urine qui n'est pas très chargée d'albumine. Cela fait supposer que le filtre rénal, lorsque la phase très aiguë est passée, a repris en partie ses fonctions. Plus tard, l'urine est encore plus abondante et toujours moins albumineuse.

Même dans ces cas subaigus ou chroniques d'épithalaxie, le sang et les organes résultent stériles ; les vibrions se trouvent exclusivement dans la bile et le long du canal intestinal, sans toutefois obéir à des règles fixes.

Souvent, on constate même leur présence, parfois en quantité très abondante dans le contenu et dans les parois entériques, quand la mort survient très tardivement après quatre à six jours. Mais, chez d'autres lapins, morts pareillement dans la sixième journée, j'ai trouvé, bien souvent, tout le canal digestif sans un seul vibrion !

On peut cependant retenir que, en général, l'auto-épuration vibrioienne de l'intestin marche avec une certaine lenteur. La portion où les vibrions demeurent le plus longtemps, c'est l'iléum, la même portion — il faut s'en souvenir — où les vibrions se présentent d'abord. Ici, on peut les retrouver même le huitième jour. Après le dixième jour on ne les isole plus que dans le duodénum où ils sont déversés directement par la vésicule biliaire, dans la muqueuse de laquelle les vibrions se

fixent et demeurent parfois pendant une période très longue : quarante, soixante, quatre-vingts jours et davantage.

Dans le IV^e mémoire j'ai parlé des cas d'infection cholérique qui ont une allure plus lente, chez les cobayes, et où même la muqueuse bucco-pharyngienne devient une voie d'excrétion des vibrions.

Or donc, chez les lapins aussi, qui succombent à une crise d'épithalaxie, comme d'ailleurs chez les lapins qui meurent au bout d'un laps de temps plus ou moins long après des injections dans le péritoine, on trouve souvent des vibrions dans la cavité buccale.

A ce propos, il n'est pas possible de fixer de données précises. On constate l'excrétion orale chez les lapins qui meurent au bout de quatre à cinq heures par épithalaxie, autant que chez les lapins qui succombent au bout de quatre à six jours. Dans un cas, chez un lapin mort vingt-quatre heures après l'injection déchaînante, on trouva les vibrions dans la bouche seulement.

Dans certains cas, le nombre des vibrions rencontrés dans la bouche est insignifiant, mais, dans d'autres cas, on constate qu'ils s'y sont déchargés en très grande quantité.

D'ordinaire, l'excrétion buccale cesse lorsque finit de même l'excrétion entérique.

J'ai effectué un certain nombre d'expériences pour vérifier la possibilité de reproduire l'attaque d'épithalaxie en sensibilisant et en préparant les lapins par des vibrions morts, au lieu que par des vibrions vivants. Même en cherchant à altérer le moins possible le protéide des vibrions, en stérilisant les cultures par le toluol, les résultats ont été bien peu concluants.

En effet, les lapins meurent en présentant aussi un tableau anatomo-pathologique analogue à celui de l'épithalaxie. Mais, dans ces cas, se produit toujours la virulence du colibacille et son abondante irruption dans le sang et dans tous les organes. Le tableau bactériologique qui en résulte est, par conséquent, celui d'une colibacillose générale violente. Il n'est donc pas possible de fixer, dans ce processus, le rôle effectif du microbe de sortie.

Au lieu de sensibiliser les lapins par des vibrions tués, j'ai

alors cherché à les sensibiliser au moyen d'injections intraveineuses de cultures vibrionniennes dissoutes par la pancréatine (voir la méthode dans le III^e mémoire).

Cependant, même en injectant dans les veines deux cultures entières dissoutes, et en faisant suivre, après 12, 24 et 48 heures, l'injection intraveineuse de 1, 2 et 3 cent. cubes de colitoxine, je n'obtins jamais des résultats satisfaisants. Aucun lapin n'a réagi d'une manière aiguë. Tous les lapins ainsi traités sont morts tardivement, après 60-80 jours, avec le tableau anatomique d'une banale cachexie intestinale.

Il semble donc que, pour obtenir une sensibilisation préparatrice convenable, l'emploi de microbes vivants soit nécessaire.

J'ai même effectué des expériences en inversant l'ordre des injections, c'est-à-dire en injectant d'abord la colitoxine et, vingt-quatre heures après, les vibrions. Les animaux succombent souvent, mais seulement après vingt-quatre heures, et le tableau anatomique est plutôt celui d'une entérite très violente. Le flux intestinal est faible; la vessie contient beaucoup d'urine un peu albumineuse; souvent on remarque des infiltrations cédémateuses dans le médiastin, des *infarctus* pulmonaires, etc., mais on n'observe pas, dans l'ensemble, les signes véritables de l'épithalaxie, que l'œil expérimenté a appris à connaître. Outre cela, la décharge des vibrions dans l'intestin fait complètement défaut, tandis qu'ils se rencontrent encore dans le sang.

Dans le cas où la mort ne survient pas, une injection successive de 1 cent. cube de colitoxine, faite vingt-quatre heures après l'injection des vibrions, tue l'animal au bout de quelques heures. On a alors le tableau typique de l'épithalaxie : stérilité du sang, décharge énorme de vibrions dans l'intestin et dans la bouche, urine chargée d'albumine, etc. Évidemment, dans ces cas, c'est la seconde injection de colitoxine qui a réagi dans l'appareil digestif sensibilisé par la précédente injection de vibrions.

Jusqu'ici j'ai dit que l'antigène déchaînant, employé par moi habituellement afin de provoquer l'attaque d'épithalaxie, c'étaient les cultures colibacillaires filtrées. Il y a eu pour cela une raison. Il faut, en effet, considérer que le colibacille est le microbe qui, chez les animaux autant que chez l'homme,

devient virulent le plus facilement dans les parois de l'intestin où il se trouve fréquemment niché.

Mais, outre le colibacille, on rencontre parfois dans les follicules lymphoïdes de l'appareil digestif de l'homme et des animaux (appendice, *sacculus rotundus* du lapin, etc.) même d'autres microbes : staphylocoques, streptocoques, *proteus*, pyocyanique, etc.

En effet, on va se convaincre toujours plus que ces microbes sont de provenance hématogène plutôt que de provenance entérogène. Mes recherches sur la pathogénie du choléra renforcent sans doute cette conception.

On sait, en outre, qu'à ces microbes on attribue une action directe dans la plus grande partie des inflammations appendiculaires, péritonéales, etc. Il semble, par conséquent, logique d'admettre que ces microbes puissent, le cas échéant, devenir virulents et se immobiliser comme le colibacille.

J'ai voulu, à la fin, expérimenter aussi, chez les lapins vibrionisés, l'action déchaînante des cultures filtrées de staphylocoque doré, de streptocoque pyogène, de *proteus vulgaris* et de bacille pyocyanique.

L'emploi de la staphylotoxine, de la streptotoxine et de la pyocyanotoxine m'a donné des résultats peu concluants. Mais la protéotoxine s'est révélée douée d'une action déchaînante, que je n'hésite point à retenir peut-être supérieure, et préférable expérimentalement, à celle de la colitoxine.

En effet, la protéotoxine se révèle, chez les lapins, beaucoup moins nuisible que la colitoxine. Les lapins adultes en supportent impunément, dans les veines, même 4-5 cent. cubes.

Voici un résumé d'un protocole d'expérience, choisi parmi les plus démonstratifs :

Lapin n° 482, de 1.500 grammes. — 18 juillet, 21 heures. Injection intraveineuse de 4 anses de vibrions.

19 juillet, 21 heures. Injection intraveineuse de 2 cent. cubes de protéotoxine.

Il meurt dix heures après.

Les lapins témoins, de poids égal, et dont l'un fut inoculé avec la même quantité de vibrions et l'autre fut inoculé avec la même dose de protéotoxine, survivent.

Autopsie effectuée une heure après la mort. — Tableau abdominal imposant. Tout le grêle est diarrhéique, efflanqué et rempli par une bouillie dense, blanchâtre, crèmeuse. Les parois des anses intestinales ne présentent pas,

cependant, la couleur rosée vive ou hortensia, que l'on rencontre, d'ordinaire, dans l'épithalaxie par colitoxine. La dernière portion aussi de l'iléum est distendue par la même bouillie. La vessie urinaire est contractée, mais on réussit à recueillir au moyen de la pipette 1 cent. cube d'urine dense, puriforme, extraordinairement albumineuse. Elle paraît au microscope comme une émulsion de cellules épithéliales.

Rate quelque peu grossie, brunâtre. Sang du cœur dense et d'aspect poisseux.

A l'ouverture de la cavité thoracique, les poumons se montrent de couleur foncée, en asphyxie, presque violacés. Mais après un rapide contact avec l'air, ils reprennent leur couleur rouge vif, presque normale.

L'examen microscopique de la bouillie dense intestinale, qui paraît constituée par des fragments et des lambeaux de muqueuse, révèle la présence d'un grand nombre de vibrios, mêlés avec d'autres bactéries.

Tableau bactériologique.

Cavité ovale	Présence de vibrios.
Péritoïne	0
Sang.	0
Rate.	0
Bile	Culture pure de vibrios.
Duodénum.	50 p. 100 de vibrios et 50 p. 100 de colibacilles.
Jéjunum.	75 Id. et 25 Id.
Iléum	65 Id. et 35 Id.
Urine	Présence de vibrios.

Une circonstance qui, dans tous les tableaux bactériologiques de l'épithalaxie déchaînée par la protéotoxine, a attiré l'attention fut la présence constante des vibrios dans l'urine.

Il s'agit d'un phénomène que je n'ai jamais observé dans l'épithalaxie par la colitoxine et qui est pourtant digne d'être remarqué.

**IV. — Algidité, crises appendiculaires
et avortement cholérique.**

Mais la crise d'épithalaxie cholérique, chez les lapins vibriosés, ne se déclanche pas seulement par une injection intraveineuse de protéines bactériennes.

J'ai voulu m'approcher, le plus possible, des conditions naturelles dans lesquelles, chez l'homme vibronisé, après une période de diarrhée vibrionienne prémonitoire, se détermine, d'ordinaire et d'une façon soudaine, l'attaque ou la crise d'algidité.

Après ce qui est ressorti de ces recherches, il est vraisem-

blable de supposer que l'attaque soudaine d'algidité puisse être causée par l'action déclanchante de quelques germes déjà nichés dans les parois intestinales et réveillés par le processus entérique spécifique, ou, ainsi que divers auteurs l'ont remarqué, par l'emploi intempestif des purgatifs, des vomitifs, par une faute diététique, etc.

Je cherchai cependant à déclencher la crise d'épithalaxie chez les lapins vibrionisés en introduisant directement, au moment favorable, le colibacille ou d'autres microbes dans les parois mêmes du canal digestif.

Pour cela, je choisis les parois de l'appendice et du *sacculus*, qui se prêtent très bien par leur épaisseur considérable. D'un autre côté, pendant ces recherches, chez des lapins morts à la suite de causes diverses, mais plus spécialement par des processus entériques artificiellement provoqués en tenant ces animaux dans la chambre-étuve à 28° ou 37°, pendant quelques jours, j'ai souvent trouvé les parois de l'appendice et du *sacculus* fourmillantes de microbes. Le plus souvent il s'agissait de colibacilles; dans un cas je rencontrai le bacille pyocyanique. Nous en parlerons ensuite.

Les résultats de ces expériences ont été complètement démonstratifs, même au point de vue de la pathologie générale.

L'injection du colibacille dans les parois des deux organes lymphatiques abdominaux du lapin : l'appendice et le *sacculus*, est toujours très sévère, bien que la vieille souche de laboratoire employée, assez toxique et très susceptible de gagner de virulence, exigeât presque une culture entière sur gélose pour tuer les lapins adultes par voie sous-cutanée. Mais un dixième de culture était généralement bien supporté dans la paroi de l'appendice, autant que dans la paroi du *sacculus*. Les injections dans le *sacculus* étaient beaucoup plus dangereuses que celles faites dans l'appendice. Le colibacille, injecté dans le *sacculus*, a une tendance plus grande à envahir le sang. Bien plus, il pénètre d'abord sans doute dans la circulation sanguine, car à l'autopsie des animaux, qui succombent quelques jours après une injection de colibacilles dans le *sacculus* — la mort survient à la suite de la cachexie intestinale — on trouve ces microbes dans la bile, quoique le sang et les viscères résultent stériles.

Si l'animal est jeune ou très sensible, ou bien si la dose des colibacilles dépasse celle qui est sublétale, on vérifie facilement la septicémie colibacillaire.

Lorsque les animaux résistent, le colibacille disparaît aussi de la bile, mais, à la longue, l'issue mortelle pour ces animaux est toujours la cachexie intestinale.

Les parois du *sacculus* et même celles de l'appendice supportent, au contraire, tout d'abord, de grandes quantités — une ou deux cultures entières — de colibacilles tués. Mais dans ces cas aussi, les animaux succombent à la suite du marasme intestinal.

Les injections de colibacilles dans les parois de l'appendice sont moins dangereuses, à savoir qu'elles exposent moins fréquemment aux surprises des invasions colibacillaires. Pour cela on doit les préférer, malgré que la recherche de l'appendice, situé profondément en comparaison de la coquille sacculaire, qui, chez les lapins, se montre aussitôt lors de l'ouverture de l'abdomen, présente des difficultés plus grandes.

A remarquer : il semble que le *sacculus*, autant que l'appendice, ne réagissent en apparence vis-à-vis des injections de colibacilles et d'autres microbes. Ces organes lymphatiques présentent un aspect presque normal, même quand ils ont été le point de départ d'un processus infectieux général qui s'est répercuté sur le canal digestif, causant une entérite violente, marquée par des congestions graves des parois, par des hémorragies de la muqueuse entérique, etc. Ces organes paraissent, à l'autopsie, presque toujours pâles, flasques et grisâtres. Seulement le point de pénétration de l'aiguille est marqué par une pétéchie imperceptible.

Même dans les manifestations les plus violentes d'épithalaxie cholérique aiguë, lorsque tout le grêle, bouleversé par l'orage anaphylactique, a réagi d'une manière imposante, le *sacculus* et l'appendice paraissent avoir été indifférents ou étrangers au processus.

Les parois de l'appendice seulement se montrent un peu œdémateuses et les follicules lymphoïdes, visibles à travers les tuniques pariétales de la muqueuse, paraissent plus ou moins grossis et saillants. Intérieurement, on trouve dans l'organe une quantité abondante, comme je l'ai déjà remarqué, de flux

caractéristique, identique à l'« eau de riz » du choléra humain.

Ces remarquables tableaux ressemblent beaucoup, dans leurs traits, aux caractéristiques présentées par l'intestin humain dans la plupart des cas aigus de choléra : pâleur exsangue, tuméfaction, contenu liquide floconneux, etc.

* * *

Cependant, on obtient casuellement des tableaux bien plus intéressants à la suite de certaines recherches, effectuées pour provoquer, chez les lapins, une attaque aiguë d'appendicite.

Sur la pathogénie de l'*ictus appendiculaire* on n'a pas des idées bien claires. Les auteurs ne sont pas encore d'accord même sur la question : si les microbes producteurs des inflammations appendiculaires atteignent l'appendice par voie hématogène ou par voie entérogène ! L'accord est général seulement sur ce point : toutes les attaques aiguës d'appendicite se manifestent dans un appendice déjà frappé par une inflammation chronique. On admet que l'attaque aiguë ne soit qu'une recrudescence ou une rechute d'un processus chronique, c'est-à-dire un épisode aigu dans le cours d'une affection chronique !

Mais on ne peut pas admettre cette explication trop simple. Souvent la symptomatologie du véritable *ictus appendiculaire* ressemble trop, même au point de vue clinique, à l'attaque d'algidité cholérique, et le syndrome aigu de certaines formes, dites hyperpyrétiques et attribuées à des agents « hyperseptiques » ou « hypervirulents » dont l'origine est appendiculaire, mais dont les manifestations humorales sont indirectes, éloignées et éparpillées, ressemble trop au tableau des accidents anaphylactiques pour n'y pas voir un mécanisme pathogénique analogue à celui du choléra.

Je me souviens d'un cas très grave, qui est demeuré classique, rapporté le 25 novembre 1904 à la Société médicale des Hôpitaux de Paris, par Moisard et Segond (1) et concernant

(1) Appendicite hypertoxique sans douleur du ventre avec diarrhée cholériforme. *Presse médicale*, 1904, p. 767. Voir aussi : L. AUMONT, De l'appendicite cholériforme. *Thèse*, Paris, 1906.

une appendicite qui s'était présentée sous la forme clinique d'un cas typique de choléra.

Les enseignements ressortis de ces expériences devaient logiquement me pousser à retenir le choc appendiculaire analogue au choc cholérique, et en à essayer la reproduction expérimentale chez les lapins, qui, parmi les animaux de laboratoire, sont les seuls qui présentent un appendice développé.

Après plusieurs essais, j'ai dû renoncer à réaliser *à coup sûr* le déclenchement d'une crise appendiculaire mortelle.

Malheureusement je n'ai eu que des cas isolés, et il ne semble pas facile de pouvoir les reproduire à volonté.

J'en résume deux, les plus caractéristiques.

Un *lapin* de 1.500 grammes (n° 488) reçoit, le 21 juillet, dans les parois de l'appendice et dans une plaque de Peyer, l'injection d'une petite quantité de staphylocoques et, en même temps, l'injection intraveineuse de 10 cent. cubes d'une culture de bacille pyocyanique filtrée sur de l'ouate et stérilisée (1).

Le jour après, le lapin se portait bien. On renouvela l'injection intraveineuse de 5 cent. cubes de la culture pyocyanique stérilisée. Quelques instants après l'animal tombe en convulsions, jette un cri et meurt. L'ouverture de la cavité abdominale, effectuée aussitôt, révèle une réaction extraordinairement intense de tout le paquet intestinal, encore agité par des mouvements violents et presque convulsifs péristaltiques. Appendice très vascularisé, avec de petites suffusions sanguines dans les tuniques pariétales. Vessie urinaire avec de l'urine albumineuse. Stérilité du sang et des viscères : les intestins contenaient une bouillie avec d'abondants colibacilles.

Lapin de 1.570 grammes (n° 495). — Il reçoit, le 26 juillet, dans les parois de l'appendice, 4 anses de staphylocoque doré. Le jour après, il reçoit dans les veines une injection de 20 cent. cubes de culture filtrée et stérilisée de bacille pyocyanique. Le lendemain l'animal était bien portant. On lui pratique une nouvelle injection intraveineuse de 2 cent. cubes de colitoxine. Peu après il est pris par du tremblotement, par des convulsions et meurt au bout d'une heure.

L'autopsie, effectuée aussitôt, révèle un tableau abdominal insignifiant. Tout l'intestin est quelque peu diarrhéique, mais d'une couleur grisâtre et peu altéré. L'appendice, au contraire, ressort aussitôt par sa couleur rouge foncée « lie de vin », par son pointillage hémorragique et la tuméfaction énorme de ses parois. Sa muqueuse est tellement tuméfiée qu'elle obstrue presque complètement la cavité appendiculaire même. Son contenu est formé par une bouillie sanguinolente d'éléments épithéliaux et de sang. La vessie urinaire est très contractée et vide. Le sang du cœur est dense et brunâtre.

(1) Des expériences précédentes avaient déjà montré la grande tolérance des lapins envers les petites doses de staphylocoques. Les cultures dans le bouillon stérilisé, du bacille pyocyanique, obtenues avec une vieille souche de laboratoire, étaient bien supportées par les lapins neufs, même à des doses très élevées : 25-30 cent. cubes.

Les cultures révèlent la stérilité absolue du péritoine, du sang et de tous les viscères. On n'a pas rencontré le staphylocoque, même dans le contenu appendiculaire! Tout l'intestin pullulait de colibacilles.

Ces cas ressemblent parfaitement à ces formes cliniques d'appendicite humaine, appelées « hypertoxiques », dans lesquelles l'intervention chirurgicale précoce nous montre l'appendice renfermant des coagulums sanguins noirs ou une houillie noire, exhalant une odeur de sphacèle avec gangrène de la muqueuse, strangurie, albuminurie, etc. (1). Il est pour cela difficile de se soustraire à l'impression que l'appendicite aiguë, dite « toxémique », dont l'origine hématogène ne pourrait pas aujourd'hui être sérieusement contestée et dont fut souvent soupçonné le point de départ par des infections buccales, ne soit qu'un syndrome anaphylactique, analogue à celui produit expérimentalement chez les lapins n° 488 et n° 496 (avec l'appendice préparé par des staphylocoques) à la suite de l'injection intraveineuse d'un antigène bactérien déchaînant. Même les troubles urinaires (ténesme, ischurie, anurie) ont paru, ici, identiques à ceux qui ont été décrits dans l'appendicite aiguë (2). Attendu, enfin, que, suivant Letulle (3), dans l'appendice vermiciforme de l'adulte, un état pathologique c'est la règle, on aura une explication plausible même de certains cas décrits récemment par Randolph (4). Cet auteur a rapporté que chez plusieurs soldats, soumis à la vaccination antityphique, il y eut des manifestations aiguës intestinales et de véritables attaques d'appendicite aiguë, lesquelles ont rendu nécessaire même l'appendicetomie!

* * *

Revenons aux expériences sur le *sacculus rotundus*. Afin de ne pas nous répéter au sujet de la symptomatologie des lésions anatomiques et du tableau bactériologique, nous nous borne-

(1) DESCOMPS, Les appendicites sans péritonite; le syndrome toxémique aigu. *Paris médical*, 1921, p. 469.

(2) F. LANCIEN, Contribution à l'étude des troubles de l'appareil urinaire au cours de l'appendicite. *Thèse*, Paris, 1902.

(3) L'appendice vermiciforme de l'homme. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1906, 4, p. 842.

(4) The relation of immunizing procedures to latent infections. *New York med. Journ.*, 1919, p. 441.

rons à reproduire, en abrégé, le protocole d'une seule expérience, choisie parmi celles bien réussies.

Lapin de 1.550 grammes (n° 461). — 15 juillet 1918, 8 heures. Injection intraveineuse de 4 anses de vibrions.

16 juillet 1918, 8 heures. Injection dans le *sacculus* de 1/10 de culture de colibacilles.

Il meurt sept heures après. Les lapins témoins survivent.

Autopsie effectuée aussitôt. — Tableau abdominal du choléra expérimental. Le grêle, avec la couleur rouge violacée caractéristique, est en grande partie rempli par un liquide dense, jaunâtre, trouble. Rate petite, noirâtre. Reins congestionnés. Vessie urinaire contractée, avec un peu d'urine puriforme et très albumineuse.

Examen microscopique du contenu intestinal. — Contenu du duodénum : cellules épithéliales, mucus et détritus; très rares vibrions. Contenu du jéjunum : bouillie d'éléments de la muqueuse; vibrions en très grand nombre. Contenu de l'iléum : vibrions en grand nombre et d'autres germes.

Préparations « par impression » du péritoine viscéral. — Les empreintes extérieures des anses le long du jéjunum, de l'iléum et de l'appendice révèlent une grande quantité de vibrions et d'autres bactéries; du cæcum on obtient des empreintes de microbes divers.

Tableau bactériologique.

	CULTURES sur gélose	CULTURES dans le bouillon lactosé
Péritoine	0	0
Sang	0	0
Rate.	0	0
Rein.	0	0
Bile	Vibrions ∞.	+ Il n'y a pas de fermentation.
Duodénum	Id.	Id.
Jéjunum.	Id.	Id.
Iléum	Id.	Il y a de la fermentation.

Bien entendu, l'on ne peut pas reproduire à volonté des expériences si claires et si démonstratives !

Souvent, les animaux survivent et succombent seulement après plusieurs jours, après des semaines et même des mois, avec les signes de la cachexie intestinale et du marasme. Parfois le colibacille ne reste pas cantonné dans le *sacculus* seulement, mais il envahit, en quantité plus ou moins grande, le péritoine, quelques viscères ou même le sang. En choisissant aussi des animaux de même poids, en opérant le même jour et en employant le même matériel, on n'est jamais sûr d'obtenir des résultats uniformes.

Lorsqu'on doit employer des microbes si peu disciplinables,

comme les vibrions et les colibacilles, on doit être préparé aux déceptions fréquentes et, en conséquence, l'on ne doit pas tirer des conclusions qui ne soient pas fondées sur l'interprétation de résultats obtenus par une longue série d'expériences méthodiques.

L'ensemble de mes protocoles visant la série complète des expériences (chacun de trois lapins) sur le *sacculus* est de soixante environ.

J'ai même essayé de provoquer la crise d'épithalaxie en inversant les opérations nécessaires, c'est-à-dire en injectant les vibrions dans l'épaisseur des parois du *sacculus* et ensuite, vingt-quatre heures après, en injectant la colitoxine dans les veines. Quatre de ces expériences ne donnèrent aucun résultat, les lapins succombèrent au bout de sept à dix jours par cachexie intestinale. Cependant une expérience réussit très bien.

Dans la paroi du *sacculus* d'un lapin de 1.550 grammes (n° 388), on avait injecté une petite dose (absolument sublétale : 3 anses) de vibrions. Au bout de la période habituelle de vingt-quatre heures, on injecta dans les veines 2 cent. cubes de colitoxine. L'animal succomba avec les symptômes ordinaires, au bout de quatre heures seulement, tandis que les témoins survécurent. L'autopsie, effectuée deux heures après, révéla du météorisme intestinal déjà accentué. Le sang du cœur n'était pas coagulé et avait une couleur foncée. Tout l'écheveau intestinal était distendu par du gaz. Les parois du grêle présentaient, par endroits, l'aspect typique extérieur rosé, avec des arborisations vasculaires, tandis qu'en quelques points il avait une couleur brunâtre. Contenu éminemment muqueux et en certains points presque entièrement aqueux, d'une couleur jaune sale; plaques de Peyer grossies; poumons, foie et reins très congestionnés; bile hémative; rate petite, flasque. Le cæcum rempli par son contenu habituel, excepté au niveau du *sacculus*, où le contenu était décidément diarrhéique, étant ramolli par la sécrétion muqueuse abondante sacculaire. En apparence, le *sacculus* ne semblait pas altéré; il était pâle, grisâtre et présentait seulement quelques petites taches d'ecchymoses. De la vessie urinaire, contractée et presque vide, on aspira quelques gouttes d'urine louche, puriforme, légèrement acide et qui, chauffée, coagula en grande partie.

Les cultures donnèrent ces résultats : stérilité du sang, du péritoine, des reins, de l'urine et du foie; quelques colibacilles dans la rate; tout le contenu entérique devenu une culture pure de colibacilles. On ne réussit point à isoler des vibrions, et pas même en cultivant les fèces diarrhéiques du cæcum, recueillies près du *sacculus*.

Voilà donc un cas typique d'épithalaxie presque foudroyante, déclenché par un antigène bactérien qui avait réagi en présence d'un foyer bien localisé de vibrions. La mort était sur-

venue sans qu'il y eût aucune décharge de vibrios dans le canal digestif, mais en favorisant la sortie du colibacille.

Quelle situation embarrassante pour un bactériologue, s'il avait dû, pendant une épidémie, se prononcer en face d'un pareil résultat, obtenu du cadavre d'un sujet mort avec tous les symptômes du choléra !

Ainsi l'on peut expliquer certains cas de choléra authentique, sans bacille virgule dans le contenu intestinal ou dans les déjections, rapportés par plusieurs auteurs.

Récemment, on a signalé même un cas typique de dysenterie bacillaire, dont le mécanisme pathogénique, comme je l'ai affirmé dès 1916 (1), est sans doute analogue à celui du choléra, sans bacilles de Shiga dans les selles. On fit accidentellement le diagnostic spécifique la veille de la mort par l'hémoculture, au moyen de laquelle on isola le bacille de Shiga typique, du sang circulant (2).

Voici deux autres résultats, parfaitement analogues, et, pour certaines considérations, peut-être plus instructifs, que j'ai obtenus pendant une série d'expériences effectuées toujours dans le même but, sur l'autre organe lymphatique : l'appendice vermiforme.

Lapin de 4.500 grammes (n° 428). — 3 juillet 1918, 13 heures. Injection, dans les parois de l'appendice, de 8 anses de vibrios.

4 juillet 1918, 9 heures. Injection intraveineuse de 2 cent. cubes de colitoxine. Le lapin meurt au bout de onze heures. Emission par la bouche et par les narines de bave sanguine.

Les deux témoins de poids égal survivent.

*Autopsie effectuée aussitôt. — Tableau abdominal cholérique typique. Duodénum de couleur rosée, très hyperémique et dilaté par une grande quantité de liquide muqueux et floconneux. Tout le jéjunum est de couleur rosée hortensia, avec une vascularisation intense, rempli d'une bouillie crèmeuse blanchâtre, en certains points diarrhéique. Iléum presque normal. Contenu du cæcum diarrhéique. Rate noirâtre. Reins congestionnés. Vessie urinaire renfermant 4 cent. cubes environ d'urine énormément albumineuse; au microscope, elle présente d'abondantes cellules et des cylindres granuleux. Appendice avec les parois un peu œdémateuses, contenant une mucosité floconneuse. Cœur en systole, avec du sang coagulé et noirâtre. Poumons avec de grands *infarctus* hémorragiques.*

(1) Pathogénie du choléra. *C. R. de l'Acad. des Sciences*, 6 novembre 1916 et *Presse médicale*, 16 novembre 1916.

(2) CASSAUDE et MARBAIS, Septicémie à bacille de Shiga et absence de ces bacilles dans les selles. *Soc. méd. des Hôp.*, 21 février 1919,

Tableau bactériologique.

	CULTURES sur gélose	CULTURES dans l'eau peptonée
Péritoine.	0	0
Sang.	0	0
Bile.	0	0
Poumons.	0	0
Thymus	0	0
Duodénum.	Peu de colibacilles.	Colibacilles.
Jéjunum (1 ^{re} portion). .	Beaucoup de colibacilles.	Id.
Id. (2 ^e Id.). .	Colibacilles ∞.	Id.
Id. (3 ^e Id.). .	Id.	Id.
Iléum.	Rares vibrions.	Colibacilles et vibrions.
Appendice	Vibrions et colibacilles.	Id.

Dans les poumons on a trouvé aussi des *infarctus* hémorragiques ou apoplectiques, que divers auteurs (Griesinger, Kelsch et Vaillard, Métin, etc.) ont signalés dans les poumons des cholériques.

Comme dans le cas précédent, même ici, la crise anaphylactique s'est déchaînée avec toute sa violence mortelle, par l'action de l'antigène sur un foyer vibrionien absolument localisé.

Cela nous porte à retenir qu'il suffit, peut-être, de la présence de vibrions dans un endroit, même très limité, des parois digestives pour qu'il y ait la possibilité de l'explosion, à un moment donné, du syndrome de l'algidité cholérique, sans qu'une altération anatomique quelconque puisse révéler la présence du foyer vibrionien responsable. Dans ce cas, on arrive à peine à déceler le vibrion dans le contenu de l'iléum, l'endroit habituel d'excrétion élective. Les vibrions avaient été expulsés, en quantité discrète, seulement par la muqueuse appendiculaire.

Chez un autre lapin (n° 371), de 1.570 grammes, soumis à un traitement analogue, mais qui avait succombé au bout de dix-huit heures, les vibrions furent décelés le long de tout l'intestin, du pylore au cæcum !

Il me semble inutile de rapporter diffusément d'autres expériences effectuées sur l'appendice ou sur les plaques de Peyer, autant que sur le *sacculus*, en injectant des vibrions dans les premiers et des colibacilles, staphylocoques ou streptocoques dans le second ou bien *vice versa*; en substituant entre eux,

d'une manière réciproque, les microbes et leurs protéides; en injectant d'abord des cultures ou des protéides colibacillaires, et ensuite des vibrions; en introduisant ces derniers par voie orale, nasale, pulmonaire, etc.

Les résultats de toutes ces tentatives n'ont pas été fort concluants au sujet de l'explosion régulière d'une crise authentique aiguë et mortelle d'épithalaxie. Mais il en est ressorti des faits que l'on doit peut-être prendre en considération, même au point de vue de la pathologie intestinale.

Par exemple, on injecta dans le *sacculus*, avec une dose quelque peu élevée (4 anses) de colibacilles, un lapin robuste de 1.520 grammes (n° 303), qui avait reçu par voie buccale des cultures de vibrions. Il succomba au bout de douze heures par colibacillose générale, mais le long de tout l'intestin on rencontra (dans les seules cultures en eau peptonée) des vibrions, bien qu'en faible quantité.

Un autre lapin, de 1.500 grammes (n° 304), reçut un traitement analogue, mais la dose des colibacilles fut de 2 anses seulement. Il succomba vingt-deux heures après par colibacillose générale. On rencontra les vibrions, abondants dans la bile et en faible quantité dans l'intestin. Dans ce cas, il s'était déjà vérifié, sans doute, le passage dans le sang circulant des vibrions administrés par la bouche.

Un autre lapin, de 1.600 grammes (n° 327), qui, en même temps, avait reçu des vibrions dans la bouche et une anse seulement de colibacilles dans le *sacculus*, succomba au bout de vingt jours par entérite chronique. Les vibrions furent isolés seulement de la cavité buccale.

Dans un autre cas analogue : lapin de 1.600 grammes (n° 328), chez lequel il y eut un intervalle de douze heures, entre l'infection orale et l'infection sacculaire, la mort survint après douze jours et on retrouva les vibrions, très abondants, le long de tout l'intestin, spécialement au niveau du *sacculus* et dans la bouche.

Un gros lapin, de 1.980 grammes (n° 348), avait reçu, avec un intervalle d'une heure et demie, des vibrions dans la bouche et des colibacilles dans le *sacculus*. Le jour suivant, vingt-sept heures après, il était bien portant et semblait avoir échappé, ainsi que d'autres lapins, au sort qu'on lui avait destiné. On injecta alors dans ses veines 2 cent. cubes de colitoxine. Il succomba au bout de quarante-cinq minutes en présentant le tableau abdominal du choléra expérimental : intestin diarrhéique, couleur de pêche, vessie rétractée avec quelques gouttes d'urine albumineuse, etc. Le sang et les viscères principaux restèrent stériles; on rencontra des vibrions seulement dans la dernière portion du jéjunum et de l'iléum.

Dans un autre cas analogue : lapin de 1.400 grammes (n° 314), la mort survint au bout de deux heures avec le tableau anatomique de l'épithalaxie atténuée, mais avec de très abondants vibrions dans tout l'intestin, et particulièrement dans l'iléum.

Dans un autre cas : lapin de 1.480 grammes (n° 374), la mort survint au bout de sept jours avec le tableau anatomique de l'entérite chronique. Les vibrions, administrés par la bouche, furent rencontrés en grande quantité dans l'iléum et dans le cæcum.

Lapin de 1.650 grammes (n° 313). Il avait reçu avec un intervalle de quatre heures des vibrions dans la bouche et de la colitoxine dans les veines. Il succomba deux jours après avec un tableau anatomique insignifiant, mais avec des vibrions en grande quantité le long de tout l'intestin.

Un lapin de 1.500 grammes (n° 529), qui avait reçu pendant trois jours une insufflation nasale abondante de vibrions, fut injecté le quatrième jour dans les veines avec 1 cent. cube de colitoxine. Il succomba au bout de dix-huit heures avec un tableau anatomique abdominal peu remarquable, bien qu'avec une urine albumineuse, et en présentant toutefois des vibrions dans une portion diarrhéique du jéjunum.

Dans la plaque de Peyer d'un lapin de 1.580 grammes (n° 541), on avait injecté une anse de staphylocoques, précédée pendant deux jours par des insufflations nasales de vibrions. On prolongea encore ces insufflations pendant six jours, au bout desquels l'animal succomba très émacié, avec l'intestin diarrhéique et l'urine albumineuse. Le sang, la bile et les viscères — excepté le rein — étaient stériles. Le rein contenait beaucoup de staphylocoques. On rencontra les vibrions seulement dans le cæcum. Le sérum sanguin produisait l'agglutination des vibrions au taux de 1/40.

Aussi intéressants sont les cas qui suivent, observés pendant une série de tentatives faites pour déclencher l'attaque d'épithalaxie, après l'introduction de vibrions dans les poumons.

Un lapin de 1.520 grammes (n° 444), vingt-quatre heures après l'injection trachéale de deux cultures vibrionniennes (d'ordinaire bien supportées, v. chap. I du IV^e mémoire), reçut dans la paroi appendiculaire deux anses de colibacilles tués par la chaleur (dose bien tolérée). Peu après se déchaîna une attaque très violente qui tua l'animal en deux heures. Tableau abdominal typique de l'épithalaxie : intestins fortement diarrhéiques, hyperémiques et privés de leur épithélium ; bile hématique, vessie contractée avec 5 cent. cubes d'urine puriforme et très albumineuse ; sang et viscères stériles. On ne rencontra des vibrions que dans le foyer pulmonaire et dans la cavité buccale.

L'importance particulière de cette expérience ressort dans le fait qu'un véritable choc cholérique se déchaîne avec des lésions graves du canal digestif, par l'action de l'antigène colibacillaire, injecté dans la paroi appendiculaire, quoique le foyer vibrionien sensibilisateur fût situé bien loin du canal entérique si gravement atteint.

Cette circonstance confirme ce que nous avons déjà dit au sujet de la lésion rénale. La crise d'épithalaxie cholérique est

une réaction générale de l'organisme entier, laquelle se répercute sur des organes qui peuvent être situés même loin du siège d'élaboration des antigènes génératrices.

Dans un autre cas : l'épin de 4.550 grammes (n° 378), l'injection de quatre anses de colibacilles dans la paroi appendiculaire détermina la mort au bout de seize heures par colibacillose. Mais les vibrions que l'on avait injectés en même temps dans la trachée furent rencontrés dans le sang et dans la bile, et en quantité extraordinaire le long de tout l'intestin. Ici, le nombre des colonies vibrionniennes par rapport à celui des colonies colibacillaires fut le suivant : duodénum, 50 p. 100; jéjunum, 75 p. 100; iléum, 95 p. 100; appendice, 25 p. 100.

Ce serait pourtant trop long de rapporter tous les protocoles d'expériences qui pourraient quelque peu intéresser.

* * *

Mais, parmi les faits intéressants ressortis casuellement de ces recherches sur la pathogénie du choléra, on ne doit pas en omettre un, qui, par son évidence démonstrative, semble pouvoir contribuer à l'explication d'un problème de pathologie cholérique, aujourd'hui encore obscur et controversé : le problème de l'avortement cholérique.

On sait que, chez les femmes enceintes, le choléra est toujours très grave et provoque presque toujours l'avortement.

Généralement, le fœtus est expulsé lorsqu'il est déjà mort ; mais il finit toujours par succomber dans le cas aussi où il est vivant. Il est même démontré que chez les femmes enceintes qui meurent sans avorter, la mort du fœtus précède toujours celle de la mère.

Le mécanisme de l'avortement cholérique n'est pas encore bien clair. Mais, chez des fœtus de femmes qui avaient avorté ou qui avaient succombé pendant l'attaque cholérique, divers auteurs ont signalé dès longtemps des tableaux cadavériques cholériformes et, plus particulièrement, des lésions intestinales caractéristiques qu'ils ont retenues de natures spécifiquement cholériques.

Griesinger (1), parmi les auteurs, rappelle des cas divers de ce genre et rapporte que la plus grande partie des fœtus qu'il

(1) *Delle malattie da infezione*. Milano, 1864, p. 554.

y eut dans la clinique obstétricale de Vienne, par l'avortement de femmes cholériques, présentaient les caractères anatomiques du choléra. Classique est demeurée l'observation de Buhl (1) dans un fœtus de huit mois, extrait par l'opération césarienne aussitôt après la mort de la mère. Les intestins de ce fœtus étaient fluctuants et remplis, de l'estomac à la valvule iléo-cæcale, par un liquide incolore, qui contenait des flocons riziformes caractéristiques.

D'autres auteurs ont confirmé ces constatations intéressantes en signalant ensuite plusieurs cas analogues.

Il semble, cependant, que le phénomène ne soit pas constant puisque chez d'autres fœtus cholériques on n'a pu faire les mêmes constatations.

Plus controversée et plus obscure demeure la genèse de ces lésions cholériques fœtales. On les attribue au passage des vibrios de la mère au fœtus à travers de prétendues altérations placentaires. Quelques auteurs, en effet, ont affirmé avoir isolé des vibrios dans le sang et le contenu intestinal des fœtus. Mais la plupart nient d'une manière absolue ce passage qui, généralement, n'a pas été confirmé. On finit donc par attribuer les lésions cholériques que l'on rencontre dans les viscères fœtaux à un des hypothétiques phénomènes toxémiques.

Cela est l'état actuel de la question.

Or, pendant mes premières tentatives faites pour provoquer la crise d'épithalaxie chez les lapins vibronisés, par des injections de staphylocoques dans les parois appendiculaires, j'ai observé le cas suivant :

Dans les veines d'une grosse lapine de 3.665 grammes, j'injectai le 16 juillet 1916 six anses de vibrios. Le lendemain, en pratiquant dans la paroi de l'appendice l'injection de trois anses de staphylocoques, je m'aperçus que la lapine se trouvait en état de gestation avancée. L'animal succomba pendant la nuit du 20 suivant, savoir trente-six heures environ après l'injection de l'antigène déchainant, tandis qu'elle avait présenté le soir précédent : dyspnée, regorgement par la bouche, diarrhée copieuse.

Tableau anatomique de la lapine. — L'autopsie effectuée le matin suivant révéla : grêle efflanqué, énormément diarrhéique, renfermant une bouillie liquide, jaunâtre et coulante, constituée par des lambeaux et des cellules de l'épithélium et par leurs détritus; côlon et cæcum très distendus, et,

(1) *Epidemische Cholera. Zeitschr. für rationelle Medizin*, 1855.

dans certains points, avec des taches hémorragiques; appendice très dilaté, brunâtre et rempli par un liquide trouble, foie quelque peu dégénéré: rate petite et noirâtre, sang dense et noirâtre, poumons très congestionnés, urine hématique et albumineuse.

Tableau anatomique des fœtus. — Lors de l'ouverture de l'utérus on extrait cinq petits fœtus, le liquide amniotique est rougeâtre, hématif; la surface cutanée des fœtus paraît œdémateuse, disséminée partout de taches rougeâtres; leur cavité péritonéale est remplie par du liquide hématif, tous les viscères montrent une infiltration œdémateuse générale et une couleur rouge vive; aussi l'estomac chez tous les fœtus est rempli par du liquide hématif qui présente au microscope des quantités extraordinaires d'éléments épithéliaux; on n'y voit pas de bactéries, tout l'intestin de couleur rouge vif est énormément tuméfié et renferme une mucosité rougeâtre, foie couleur feuille morte.

Cultures de la lapine et des fœtus. — Du péritoine de la lapine on cultive quelques colibacilles. Sang, rate, reins sont stériles. En plus ou moins grande quantité on cultive des vibrions: de la bouche, de la bile, de toutes les portions intestinales. Le contenu de l'appendice semblait une culture presque pure de vibrions; la bile une culture absolument pure. On n'y dévoila pas le staphylocoque.

Tous les ensemencements du sang, des viscères et du canal digestif fœtaux restèrent stériles.

Plus tard j'ai fait la même expérience chez deux autres lapines vibronisées et en état de gestation avancée, en substituant l'injection de staphylocoque dans l'appendice par l'injection intraveineuse de 0 c. c. 5 de colitoxine.

Dans un des cas (lapine de 2.150 grammes), la mort survint au bout de sept heures, et dans l'autre cas (lapine de 2.400 grammes) au bout de treize heures, avec la symptomatologie, les lésions anatomiques et le tableau bactériologique du choléra expérimental. Les fœtus, dans les deux cas, bactériologiquement stériles, présentaient le long de tout le canal digestif les mêmes lésions rencontrées chez les fœtus de la première lapine.

Les lésions anatomiques graves et les altérations humorales rencontrées dans ces fœtus nous portent absolument à penser qu'elles sont de nature épithalaxique. Elles peuvent en effet être considérées, de même que les lésions du rein cholérique, comme les signes de la crise profonde et générale vasculo-sanguine et de la réaction dans les colloïdes plasmatiques, chez les mères et chez les fœtus, et qui sont les marques de l'épithalaxie.

On peut donc supposer qu'il s'agit d'un phénomène analogue même dans les cas de fœtus de femmes cholériques.

Enfin, pour ce qui concerne le mécanisme de l'avortement

il me semble que les conséquences des contractions tétaniques, dans le choléra, autant que dans l'anaphylaxie, frappent les muscles lisses.

Les recherches de Auer et Lewis (1) attribuent à ces contractions spasmotiques de la musculature lisse des petites bronches le spasme bronchique, qui accompagne toujours l'accès asthmatique dans l'anaphylaxie. Cette hypothèse s'appuie sur une expérience effectuée par Biedl et Kraus (2) : les cobayes qui ont reçu une dose élevée d'atropine ne meurent point par anaphylaxie immédiate. L'atropine paralyserait les muscles lisses. Même chez les cobayes qui meurent après l'attaque d'algidité cholérique, comme j'ai dit dans le mémoire précédent, on trouve souvent une quantité de spermatozoïdes dans la vessie urinaire. Evidemment, pendant la période algide, le sperme passe dans l'urètre à la suite du spasme des fibres musculaires lisses des canaux déférents, des vésicules séminales et des canaux excréteurs.

On sait bien, que, aussi chez les cholériques, dans les premières portions d'urines, émises pendant la réaction, on trouve des spermatozoïdes !

Le tableau entier de l'algidité cholérique, chez les cobayes et les lapins, autant que chez l'homme, paraît dominé par le spasme des vaisseaux et par la contraction tétanique presque générale de la musculature lisse, comme dans les cas les plus typiques d'anaphylaxie.

Ainsi l'on explique, même dans le choléra humain : la chute du pouls, la barre épigastrique, le refroidissement, la cyanose, le desséchement des tissus dû au rétrécissement des artéries et des petites veines, l'augmentation des mouvements péristaltiques intestinaux, le vomissement par la contraction spastique des parois gastriques, le spasme du cholédoque et de la vessie, l'anurie, etc.

Ce syndrome est tellement typique et évident que, certains auteurs (3), après avoir remarqué d'étroites analogies entre les

(1) La cause de la mort subite dans l'anaphylaxie aiguë du cobaye. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1910.

(2) Studien über Anaphylaxie. *Wien. klin. Woch.*, 1909-1910.

(3) PAOLETTI, La patogenesi del colera. *Giornale medico del R. Esercito e della R. Marina*, Roma, 1885.

symptômes du choléra et ceux de la peur, n'ont pas hésité à définir le choléra comme un tétanos des muscles lisses et plus spécialement des muscles des vaisseaux.

V. — Hypotension artérielle et modifications hématologiques dans l'épithalaxie cholérique.

J'ai cependant retenu qu'il était nécessaire d'étudier davantage ce phénomène de la chute de la pression artérielle, à la fois si caractéristique dans le choléra humain et dans les crises anaphylactiques.

On sait que le choc d'anaphylaxie est marqué toujours par une paralysie vaso-dilatatrice, qui détermine, à son tour, la chute de la pression artérielle. Cet abaissement de pression n'est pas accompagné par une accélération du pouls ; au contraire, il est souvent caractérisé par de la bradycardie.

L'hypotension est un des phénomènes les plus constants de la crise anaphylactique et Arthus admet que la gravité du choc est marquée par le degré et la durée de l'abaissement de la pression artérielle.

Quelques auteurs (Biedl et Kraus), bien plus, attribuent les accidents anaphylactiques seulement à ce phénomène, que Richet rapporte à une vaso-dilatation paralytique de l'intestin, et Pesci à une action réflexe des vaisseaux.

Souvent cette dilatation est tellement grave, qu'elle est accompagnée par de la diarrhée, du ténèse rectal, de l'entérorragie, etc., de sorte que Schittenhelm (1) a même décrit une « entérite anaphylactique ».

L'étude de ce phénomène chez les lapins cholériques n'a pas été facile. Les vibrions ne se prêtent pas tous également bien pour ce genre d'expériences. Les vibrions de l'Isonzo, ainsi que d'autres souches que l'on m'avait envoyées de Constantinople et de l'Egypte, n'avaient pas répondu à mon attente. L'explosion de l'épithalaxie cholérique, après l'injection de l'antigène déchaînant, ne se vérifiait pas promptement, ou du moins avec une certaine régularité. On ne pouvait pas pour cela contenir plusieurs heures durant le lapin immobilisé, sa carotide étant

(1) PESCI. *Forme anafilattiche*, Milan, 1916, loc. cit., p. 17.

en communication avec le manomètre de François Frank, et le cylindre enregistreur en mouvement, dans l'attente d'une crise qui pouvait même éclater bien tard.

Heureusement j'ai reçu il y a peu de temps (été 1923), grâce au Dr Ciuca, de la Faculté de Médecine de Jassy, un vibron isolé d'un cas mortel de choléra, qui s'était vérifié en Roumanie.

Nous verrons ailleurs, que l'on doit faire ces expériences sur le choléra expérimental toujours pendant l'été, avec des vibrions autant que possible isolés récemment et, en tout cas, depuis pas plus de trois ans.

Le vibron roumain, appelé par le Dr Ciuca « vibron Ph », isolé à la fin de 1922, a parfaitement fonctionné dans ces dernières recherches sur la pression sanguine.

Moins toxique que les autres vibrions précédemment employés, on pouvait l'injecter impunément dans les veines des lapins de 1.600-1.800 grammes à la dose de 1/2 à 1/3 de culture sur gélose.

Si, vingt-quatre heures après l'injection de cet antigène préparant, on injectait dans la veine marginale des lapins une dose, même petite, de protéotoxine (0 c. c. 5), les animaux succombaient régulièrement dans l'espace d'une heure environ, après avoir présenté tous les symptômes caractéristiques de l'épithalaxie.

A vrai dire, le tableau anatomique et bactériologique était, dans ces cas, moins typique et moins grave que celui qui était produit avec d'autres sources vibrionniennes et particulièrement avec le vibron de l'Isonzo, qui, pendant trois années, m'avait répondu mieux que tous les autres vibrions jusqu'alors employés. Malheureusement, ce vibron de l'Isonzo est devenu, depuis plusieurs années, complètement inactif et on ne peut plus l'employer pour ce genre d'expériences.

Toutefois, la régularité et la rapidité par lesquelles le vibron roumain favorise l'explosion de la crise d'épithalaxie après l'injection de la protéotoxine a permis à mes assistants, MM. Alessandrini et Sette, de fixer sur le papier enfumé des tracés complets de la pression carotidienne.

L'interprétation précise de ces tracés se trouve résumée dans le jugement d'ensemble qu'en a donné mon éminent confrère

M. Baglioni, directeur de l'Institut de physiologie, et qui a bien voulu se charger de leur analyse.

« Des tracés de la pression carotidienne chez les lapins » — écrit le professeur Baglioni — résulte constamment que : « après l'injection déchaînante, a lieu *une descente graduelle de la pression artérielle, jusqu'à la mort*. Pendant et immédiatement après les accès d'agitation générale de l'animal, « on observe une modification caractéristique du rythme cardiaque, donnée par un ralentissement remarquable de ce dernier, en moyenne : 120 à 60 pulsations par minute. La phase diastolique de la révolution cardiaque devient trois à cinq fois plus longue que celle normale. La phase systolique, ample et valide d'abord, diminue progressivement d'amplitude et d'intensité et le battement cardiaque devient à la fin arythmique et irrégulier. »

* * *

J'ai voulu enfin étudier aussi, chez quelques lapins, la façon de se comporter des leucocytes du sang avant, pendant et après la crise d'épithalaxie.

On sait que, dans le choc anaphylactique, on constate pendant la première période une diminution très marquée des globules blancs du sang circulant, et pendant la deuxième période une réaction leucocytaire intense.

Les opinions concernant le mécanisme tant de la leucopénie initiale que de l'hyperleucocytose successive demeurent encore controversées, mais le phénomène est constant et caractéristique.

La façon de se comporter des globules blancs du sang circulant chez les lapins vibrionisés et atteints ensuite d'épithalaxie cholérique est la suivante : immédiatement après l'injection préparante des vibrions, le nombre des leucocytes vasaux décroît en général d'une manière sensible pendant quelques heures, se réduisant parfois jusqu'à la moitié de ceux constatés avant l'injection.

Mais, au bout de vingt-quatre heures, la numération des globules blancs marque généralement une leucocytose intense. Le nombre des leucocytes peut même atteindre le triple du nor-

mal. L'injection de l'antigène déchaînant est immédiatement suivie par une leucopénie très accentuée, qui se révèle déjà dès les premiers symptômes du choc épithalaxique et qui est extraordinairement intense au maximum des attaques convulsives.

Cette leucopénie est, au contraire, moins marquée et de courte durée lorsque l'animal survit à l'attaque. Au bout de quelques heures à peine, à mesure que l'animal se rétablit, survient l'hyperleucocytose.

Pour la clarté du sujet, je résume six protocoles d'expériences suffisamment caractéristiques.

		LAPIN N° 62 de 2.000 grammes	LEUCOCYTES par millim. cube de sang
12 juillet, 9 h. . .		"	11.600
Id.	9 h. 45.	Injection intraveineuse des vibrions.	"
Id.	11 h. . .	"	9.400
Id.	12 h. . .	"	6.000
Id.	19 h. . .	"	13.000
13	Id. 8 h. 30.	"	29.000
Id.	9 h. 45.	Inject. intraveineuse de protéotoxine.	"
Id.	10 h. 30.	Commencement du choc.	9.200
Id.	11 h. . .	Maximum de la crise.	8.600
	Id. 11 h. 30.	Mort.	"
		LAPIN N° 31 de 1.600 grammes	LEUCOCYTES par millim. cube de sang
13 juillet, 8 h. 30 .		"	8.400
Id.	10 h. . .	Injection intraveineuse des vibrions.	"
Id.	12 h. . .	"	4.000
Id.	19 h. . .	"	5.500
14	Id. 8 h. 30.	"	14.600
Id.	10 h. . .	Injection intravein. de protéotoxine.	"
Id.	10 h. 45.	Commencement du choc.	10.200
Id.	13 h. . .	"	6.400
Id.	17 h. 30.	Maximum de la crise.	4.500
	Id. 18 h. . .	Mort.	"
		LAPIN N° 32 de 1.680 grammes	LEUCOCYTES par millim. cube de sang
13 juillet, 8 h. 30 .		"	12.000
Id.	10 h. . .	Injection intraveineuse des vibrions.	"
Id.	12 h. . .	"	10.000
Id.	19 h. . .	"	7.000
14	Id. 8 h. 30.	"	16.000
Id.	10 h. . .	Injection intravein. de protéotoxine.	"
Id.	11 h. . .	Commencement du choc.	3.600
Id.	17 h. 45.	Maximum de la crise.	2.800
	Mort dans la nuit.		

	LAPIN N° 49 de 1.640 grammes	LEUCOCYTES par millim. cube de sang
--	---------------------------------	--

15 juillet, 9 h. . .	" . . .	10.200
Id. 10 h. 30.	Injection intraveineuse des vibrions.	" . . .
Id. 12 h. . .	" . . .	7.000
Id. 19 h. . .	" . . .	8.200
16 Id. 8 h. 30.	" . . .	12.800
Id. 10 h. 30.	Injection intravein. de protéotoxine.	" . . .
Id. 11 h. 30.	Commencement du choc.	5.400
Id. 19 h. . .	" . . .	9.400

Il a survécu.

	LAPIN N° 30 de 1.560 grammes	LEUCOCYTES par millim. cube de sang
--	---------------------------------	--

11 juillet, 9 h. . .	" . . .	8.700
Id. 10 h. . .	Injection intraveineuse des vibrions.	" . . .
Id. 12 h. . .	" . . .	3.600
Id. 18 h. 30.	" . . .	6.600
12 Id. 9 h. . .	" . . .	12.300
Id. 10 h. . .	Injection intravein. de protéotoxine.	" . . .
Id. 12 h. 45.	Commencement du choc.	7.000
Id. 12 h. 45.	Maximum de la crise.	4.600
Id. 18 h. . .	" . . .	13.000

Il a survécu.

	LAPIN N° 22 de 1.500 grammes	LEUCOCYTES par millim. cube de sang
--	---------------------------------	--

11 juillet, 9 h. . .	" . . .	8.400
Id. 10 h. . .	Injection intraveineuse des vibrions.	" . . .
Id. 12 h. . .	" . . .	7.800
Id. 18 h. 30.	" . . .	14.600
12 Id. 8 h. 30.	" . . .	23.600
Id. 10 h. . .	Injection intraveineuse de colitoxine.	" . . .
Id. 10 h. 30.	" . . .	4.000
Id. 12 h. . .	" . . .	5.000
Id. 19 h. . .	" . . .	10.000

Il a survécu.

A l'égard de la formule leucocytaire, c'est-à-dire de la quantité absolue des diverses espèces de leucocytes par millimètre cube de sang, j'ai observé que, dans les cas d'épithalaxie cholérique des lapins, les variations se manifestent par des quantités à peu près constantes. A l'injection intraveineuse des vibrions suit régulièrement une diminution notable, tant des leucocytes pseudo-éosinophiles que des lymphocytes. Mais, aussitôt après, a lieu leur remarquable augmentation.

Un abaissement immédiat des deux espèces citées de leuco-

cytes suit aussi l'injection déchaînante, et cette diminution peut se maintenir jusqu'à la mort, quand les lapins succombent dans un court délai. Au contraire, il y a une tendance à une augmentation successive chez ces animaux qui meurent au bout de plusieurs heures ou qui vont survivre.

Parfois les variations leucocytaires sont plus accentuées pour les leucocytes pseudo-éosinophiles, parfois pour les lymphocytes.

Cependant, comme dans le sang des lapins il n'y a pas de leucocytes neutrophiles, j'ai pensé qu'il aurait été bien peu intéressant d'effectuer des comparaisons entre les formules leucocytaires de ces animaux et les données hématologiques de l'homme.

RÉSUMÉ

Les résultats et les faits exposés dans ce neuvième mémoire peuvent se résumer dans les conclusions suivantes :

1^o Les vibrions cholériques, introduits dans l'organisme humain par voie sous-cutanée ou par voie orale, atteignent, à travers la circulation générale, les parois du canal digestif, en produisant des manifestations morbides intestinales et générales, plus ou moins graves.

2^o Les lapins jeunes sont fort sensibles envers les injections intraveineuses de vibrions, même en petites doses. Ils meurent facilement par septicémie vibronienne.

3^o Les lapins adultes (au-dessus de 1.500 grammes) résistent mieux aux injections intraveineuses de vibrions cholériques. Les doses léthales minimes sont celles qui tuent au delà de quarante-huit heures. Dans ces cas, le diagnostic anatomique est celui d'une entérite et le tableau bactériologique est caractérisé, — comme chez les cobayes qui meurent quelques jours après une injection de vibrions dans le péritoine, — par la stérilité du sang et des organes, mais toutefois par la présence de vibrions le long du canal digestif. La quantité de ces vibrions est corrélativement plus grande à mesure que la maladie se prolonge davantage.

4^o Mais, parfois, même l'injection intraveineuse de vibrions

à dose habituellement non léthale peut tuer les lapins d'une façon soudaine. Dans ces cas, la mort est causée, ou par l'exaltation soudaine de la virulence et l'invasion très rapide de quelques microbes de sortie (généralement le colibacille), ou par une crise anaphylactique provoquée par l'existence d'anciens foyers microbiens sensibilisateurs (dans le foie, dans les poumons, etc.), sur lesquels les vibrions agissent comme des antigènes déchaînans.

5° Chez les lapins adultes ces crises anaphylactiques mortelles peuvent se manifester même plusieurs jours après l'injection intraveineuse d'une dose non léthale de vibrions. Mais, dans ce cas, elles sont provoquées par le réveil soudain des colibacilles et par leur multiplication, quand même extrêmement limitée et localisée, mais toutefois suffisante pour la production de la quantité nécessaire d'antigène déchaînant.

6° Les vibrions, introduits directement dans le sang des lapins adultes, à doses non léthales, se dirigent et s'accumulent rapidement dans les parois du tube digestif. D'ordinaire, au bout de vingt-quatre heures, ils sont presque complètement disparus de la circulation et commencent à paraître dans l'intestin, au niveau de l'iléum. A partir de la quarante-huitième heure le sang est généralement stérile, tandis que les vibrions se trouvent toujours de plus en plus grand nombre le long de l'intestin. Au bout de cinq-six jours les vibrions sont d'ordinaire disparus de l'organisme.

7° Les lapins, même adultes, se montrent fort sensibles envers les injections intraveineuses de cultures colibacillaires filtrées (colitoxine), qui agissent d'une façon presque élective sur les parois intestinales, en produisant des entérites aiguës ou chroniques. Mais les doses petites (1-2 cent. cubes), excepté quand il y a des tares organiques où des foyers microbiens préexistent, sont en général bien tolérées.

8° Lorsque chez les lapins adultes, environ vingt-quatre heures après l'injection intraveineuse d'une dose non mortelle de vibrions, on injecte encore dans les veines une petite quantité de colitoxine ou de protéotoxine, on assiste souvent au déclenchement d'une crise violente, de nature probablement anaphylactique, qui provoque la mort, quelquefois subite, parfois quelques heures après.

9^o Les injections intraveineuses de cultures vibrionniennes, tuées ou dissoutes, ne sont pas aptes à sensibiliser les lapins envers l'action déchaînante de l'antigène colibacillaire.

10^o Lorsque la mort provoquée par ces crises est foudroyante ou presque foudroyante, la symptomatologie est celle d'un choc anaphylactique typique. Le tableau anatomique, à l'autopsie, est celui d'une congestion veineuse générale. Le tableau bactériologique se résume dans l'ordinaire stérilité du sang et la faible quantité ou même l'absence de vibrions dans le tube digestif.

11^o Lorsque la mort survient au bout de plusieurs heures, l'accès mortel, qui finit presque toujours par des convulsions et des phénomènes d'asphyxie, est précédé par de l'hypothermie. Celle-ci équivaut à un état algide, qui commence presque aussitôt après l'injection de la colitoxine ou de la protéotoxine et s'accentue progressivement jusqu'à la mort. Dans ces cas, le tableau anatomique est celui d'une entérite desquamative plus ou moins violente, avec production de flux intestinal très abondant, compliquée par de la néphrite aiguë et, souvent encore, d'état souvent asphyxique des poumons.

12^o Puisque le signe le plus constant et le plus saillant que l'on relève dans ces cas est représenté par la chute massive des épithéliums de revêtement de toutes les surfaces muqueuses (tube digestif, vessie urinaire, vésicule biliaire), nous avons donné à ce tableau morbide le nom d'« épithalaxie », qui signifie « chute des épithéliums ».

13^o Les deux organes le plus profondément touchés dans l'épithalaxie cholérique du lapin : l'intestin et le rein, présentent non seulement les mêmes troubles fonctionnels, mais aussi les mêmes altérations microscopiques caractéristiques de l'intestin et du rein des cholériques.

14^o Dans ces cas, même le tableau bactériologique est en tout point analogue à celui du choléra humain, c'est-à-dire : stérilité habituelle du sang et des organes, quantité parfois immense de vibrions dans le contenu diarrhéique de l'intestin grêle. Ces vibrions ne se sont pas multipliés dans le flux séro-muqueux intestinal. Ils proviennent des parois, ou, pour être plus précis, ils proviennent de la sous-muqueuse, où, au microscope, on les voit disséminés et même multipliés et

entassés par groupes très épais. Leur nombre dans le contenu intestinal est, par conséquent, en raison directe de la décharge pariétale plus ou moins abondante. Dans les cas d'épithalaxie aiguë ou subaiguë, et aussi chez les lapins qui meurent après une injection de vibrions dans le péritoine, on constate une excrétion de vibrions même de la part de la muqueuse bucco-pharyngienne.

15° Quelquefois, les lapins peuvent surmonter la crise, c'est-à-dire la phase aiguë d'épithalaxie, et succomber tardivement. Dans ces cas la mort se produit avec les signes anatomiques du marasme intestinal, causé en très grande partie par l'action directe, exercée sur les parois intestinales, par le protéide vibronien. Au contraire, la lésion rénale grave que l'on observe pareillement dans l'épithalaxie aiguë, mais qui est cependant causée par la réaction humorale générale, se répare avec une rapidité surprenante, comme chez les cholériques.

16° Même dans ces cas de mort tardive, on peut toutefois rencontrer dans le canal digestif un grand nombre de vibrions. L'auto-épuration vibronienne intestinale de ces lapins, qui ont survécu au choc aigu cholérique, marche, en effet, avec une certaine lenteur. La portion intestinale où les vibrions demeurent le plus longtemps, c'est l'iléum. Dans la vésicule biliaire, les vibrions qui y sont parvenus à travers la circulation générale peuvent être rencontrés même au bout de quatre-vingts jours et davantage.

17° Chez les lapins vibronisés par voie sanguine, la crise mortelle d'épithalaxie, avec son tableau anatomique et bactériologique usuel, peut être déchaînée, outre que par l'injection intraveineuse de colitoxine ou de protéotoxine, aussi par l'injection de colibacilles ou de staphylocoques vivants, pratiquée directement dans les parois de l'appendice ou du *sacculus rotundus*.

18° Même l'injection de vibrions dans les parois du *sacculus* ou de l'appendice, suivie vingt-quatre heures après par l'injection intraveineuse de colitoxine, peut déclencher une attaque très aiguë et mortelle d'épithalaxie typique. Mais, dans ces cas, avec le foyer sensibilisateur localisé, il n'y a pas la décharge intestinale caractéristique et abondante des vibrions. Cette décharge peut faire complètement défaut, ou bien être

faible et limitée autour de l'organe lymphatique, qui est le siège du foyer vibrionisé.

19^o L'appendice vermiciforme, sensibilisé par le staphylocoque doré, peut réagir mortellement, le cas échéant, à la pénétration, dans la circulation sanguine, d'un antigène bactérien, et cela d'une façon si soudaine et avec une altération si importante de l'organe que l'on doit penser à un lien pathogénique possible de ce choc, au siège appendiculaire, avec l'attaque aiguë, subitement mortelle, des appendicites humaines, dites hypertoxiques ou toxémiques, et qui prennent quelquefois une physionomie clinique cholériforme.

20^o L'explosion soudaine d'une colibacillose ayant comme foyer de sortie un point quelconque du canal digestif rend plus facile et plus rapide la pénétration dans la circulation sanguine, et, par conséquent, la décharge intestinale des vibrions administrés par la bouche ou injectés dans l'appareil respiratoire.

21^o La réaction d'un foyer colibacillaire ou staphylococcique dans un organe lymphatique de l'appareil digestif peut produire une entérite catarrhale chronique, accompagnée, le long de tout l'intestin, de l'excrétion de vibrions attirés ici de la cavité orale ou de la muqueuse nasale.

22^o La crise mortelle d'épithalaxie avec ou sans apparition de vibrions dans l'intestin, après leur introduction par la voie de la bouche, des cavités nasales ou des poumons, peut également se déchaîner chez les lapins, mais d'une manière tout à fait accidentelle.

23^o L'avortement ou la mort du fœtus, que l'on constate dans l'algidité cholérique, chez l'homme et chez les animaux, est une conséquence probable de la contraction spasmodique, qui, dans l'épithalaxie cholérique comme dans l'anaphylaxie, frappe tous les organes et les tissus constitués ou pourvus de fibres lisses.

Les altérations anatomiques cholériformes, que l'on rencontre dans les viscères des fœtus cholériques, ne doivent être attribuées ni au passage des vibrions de la mère au fœtus, à travers de prétendues lésions placentaires, ni à d'hypothétiques toxines cholériques, filtrées à travers le placenta. Elles sont, au contraire, le résultat de l'altération humorale, qui se produit

dans la crise anaphylactique, laquelle se manifeste, pendant l'attaque d'algidité, dans toutes les humeurs de l'organisme.

24° La crise d'épithalaxie cholérique chez le lapin est toujours accompagnée, comme chez l'homme cholérique et comme dans toute crise épithalaxique, par la chute progressive de la pression artérielle et par des modifications hématologiques consistant en phases successives de leucopénie et d'hyperleucocytose et déterminées principalement par des variations numériques des pseudo-éosinophiles et des lymphocytes.

25° Les manifestations symptomatiques, les altérations anatomiques macro- et microscopiques, les tableaux bactériologiques et hématologiques, les troubles circulatoires et humoraux, qui accompagnent et caractérisent l'épithalaxie cholérique expérimentale des lapins et qui présentent tant d'analogies avec le tableau des crises anaphylactiques, coïncident complètement avec les phénomènes que l'on observe chez l'homme cholérique.

EXPLICATION DES PLANCHES

PLANCHE I

Fig. 1. — Duodénum de lapin vibrionisé par voie intraveineuse, mort quarante-huit heures après l'injection de l'antigène déchaînant (colitoxine). L'épithélium de revêtement des culs-de-sac glandulaires n'est pas beaucoup altéré. Les vibrions se montrent disséminés dans tout le tissu périglandulaire, mais plus spécialement ils sont réunis en groupes dans l'intérieur des glandes et au-dessus de la *muscularis mucosæ*. La section passe au travers d'une glande de Brunner, dans l'intérieur de laquelle on trouve même des vibrions (Coloration par la fuchsine phénique. Ob. 1/15. Imm. hom.; Oc. 4 comp.).

Fig. 2. — Jéjunum de lapin vibrionisé par voie intraveineuse et mort par épithalaxie typique, huit heures après l'injection de l'antigène déchaînant (colitoxine). Presque toutes les cellules de revêtement des glandes de Lieberkühn sont altérées ou détruites. Les vibrions se montrent disséminés dans le tissu périglandulaire et dans l'intérieur des glandes. Ils sont entassés plus particulièrement dans le chorion, au-dessus et le long de la *muscularis mucosæ*. Le stroma conjonctif est très œdémateux et dans ses mailles dilatées on observe même des vibrions (Coloration par la fuchsine phénique. Ob. 1/15. Imm. hom.; Oc. 4 comp.).

Fig. 3. — Contenu du jéjunum d'un lapin mort d'épithalaxie vibrionienne typique, sept heures après l'injection de l'antigène déchaînant (Lapin n° 272, chapitre IV. Coloration par la fuchsine phénique. Ob. 1/15. Imm. hom.; Oc. 6 comp.).

Fig. 4. — Contenu de l'appendice d'un lapin mort seize heures après une

injection trachéale de vibrions, suivie par l'injection de colibacilles dans les parois de l'appendice. Dans ce cas s'était vérifiée une décharge imposante de vibrions le long de tout le canal digestif (Lapin n° 378, chapitre IV. Coloration par la fuchsine phénique. Ob. 4/15. Imm. hom. ; Oc. 6 comp.).

FIG. 5. — *Sacculus rotundus* de lapin neuf. Le tissu lymphatique se montre parsemé de bactéries diverses, dont la plupart sont libres dans le stroma du follicule. On y observe, cependant, de gros éléments lymphoïdes, remplis par des bactéries (Coloration par le Gram et le carmin boracique. Ob. 4/15. Imm. hom. ; Oc. 8 comp.).

PLANCHE II

FIG. 1. — Rein d'un lapin mort d'épithalaxie cholérique typique, quatre heures après l'injection de l'antigène déchaînant (colitoxine). Section perpendiculaire à la surface et comprenant une partie de la substance corticale et de la substance médullaire. La coloration par l'hématoxyline-éosine montre très bien les altérations fort graves des deux couches. Les glomérules de Malpighi paraissent énormément distendus par le sang. On trouve des foyers hémorragiques çà et là, disséminés parmi les canalicules, et dont quelques-uns se montrent remplis par des globules rouges. Les épithéliums de revêtement des canalicules portent les marques d'une dégénération profonde ou de la nécrose par coagulation. Leurs noyaux ont complètement disparu dans plusieurs tubes. L'intensité différente de la coloration présentée par les canalicules indique l'état de dégénération plus ou moins avancée de leurs épithéliums de revêtement. (Ob. 4, Oc. 3.)

FIG. 2. — La même préparation à grossissement plus fort (portion corticale). On y observe mieux l'infiltration hémorragique du conjonctif péri-tubulaire. Les éléments épithéliaux des canicules paraissent complètement nécrosés et transformés dans une substance granulaire amorphe où il n'y a plus la moindre trace des noyaux. (Ob. 6, Oc. 3.)

FIG. 3. — Rein du même lapin. Préparation traitée par le Sudan III (substance corticale). Outre l'infiltration diffuse hémorragique, qui occupe la plus grande partie des espaces péritubulaires, on observe la capsule d'un glomérule distendue par un exsudat albumineux abondant. Les marques de la dégénération, étendues partout, sont représentées par des granulations de couleur orange, disséminées et qui intéressent les parois des vaisseaux, particulièrement les glomérules, les éléments des canalicules, le tissu de soutien et même l'exsudat albumineux intracapsulaire. Ces granulations se montrent particulièrement abondantes au-dessus du feuillet pariétal de la capsule de Bowmann. (Ob. 6, Oc. 4.)

FIG. 4. — Intestin grêle de lapin vibrionisé par voie intraveineuse et mort d'épithalaxie typique, quatorze heures après l'injection de l'antigène déchaînant (colibacilles) dans les parois du *sacculus rotundus*. La muqueuse se présente complètement détruite et réduite au stroma œdémateux, déformé et presque méconnaissable, de quelques villosités. Il y a des culs-de-sac glandulaires qui conservent cependant leurs éléments cellulaires. Le conjonctif de la sous-muqueuse, entre la tunique musculaire et la *muscularis mucosæ*, paraît énormément enflé par l'infiltration œdémateuse. (Coloration par l'hématoxyline-éosine. Ob. 6, Oc. 3.)

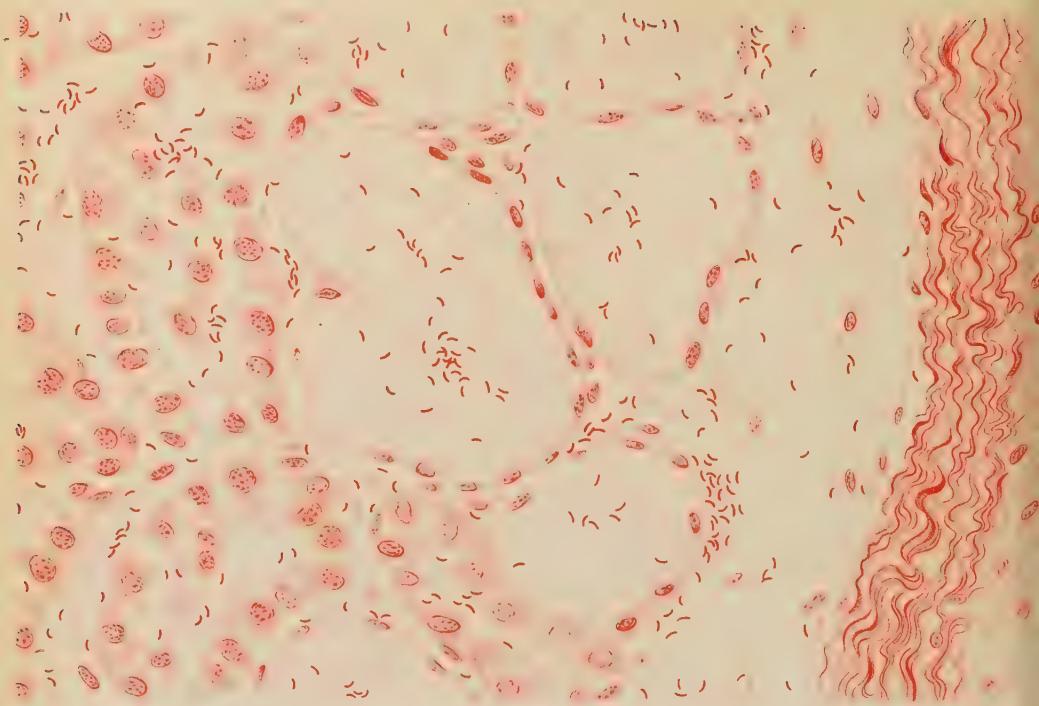


Fig. 2

Fig. 3

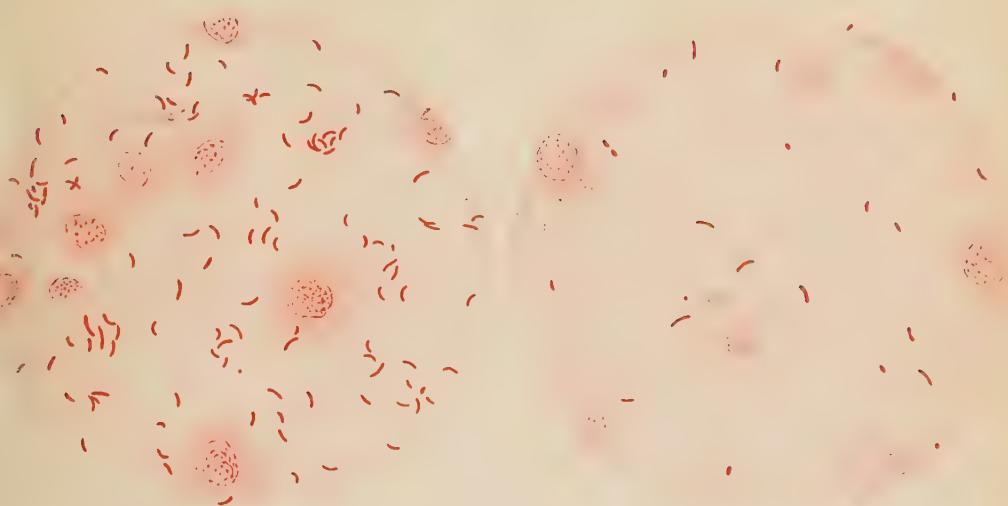


Fig. 4

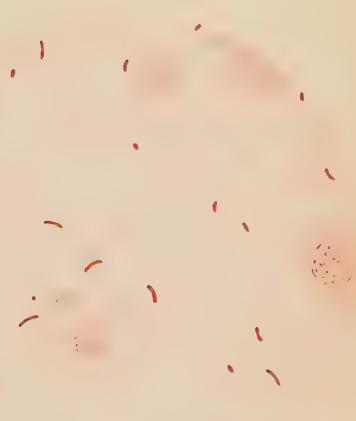


Fig. 5

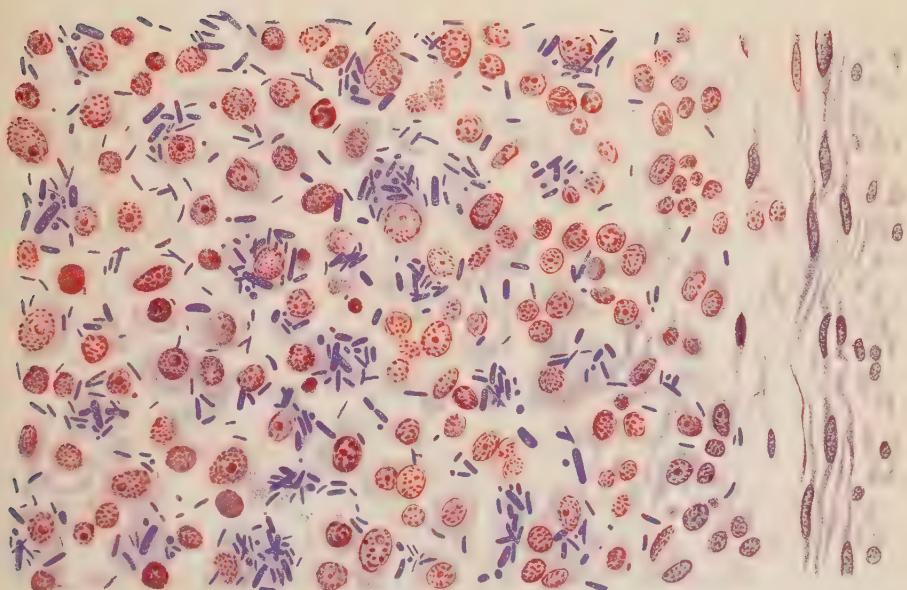


Fig. 1

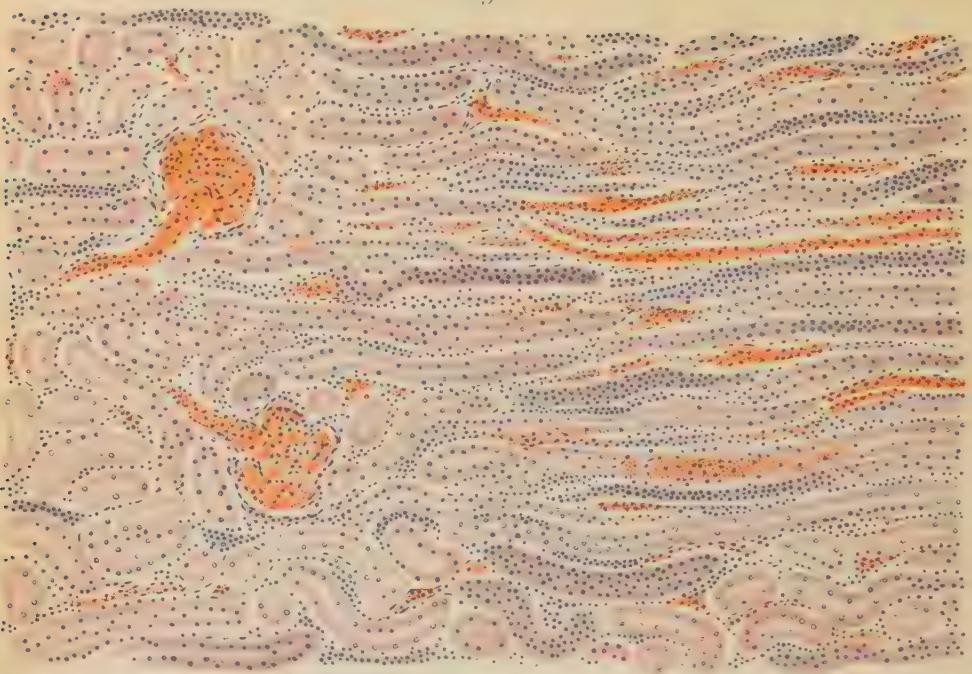


Fig. 2

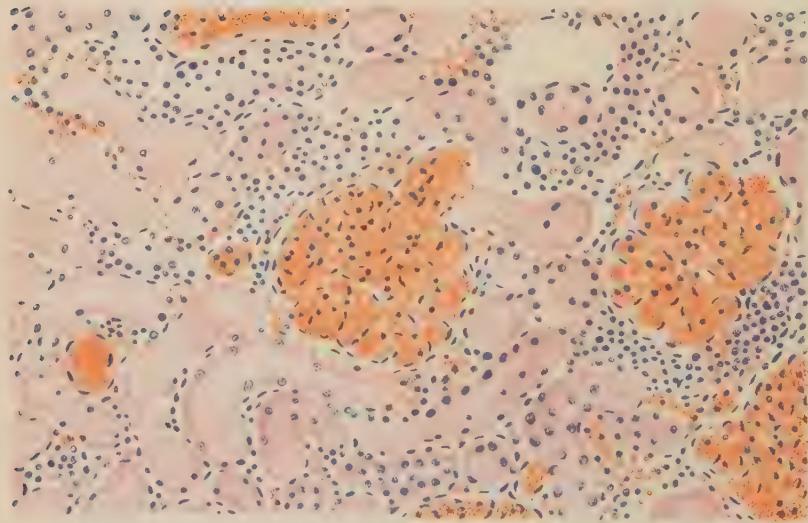


Fig. 3

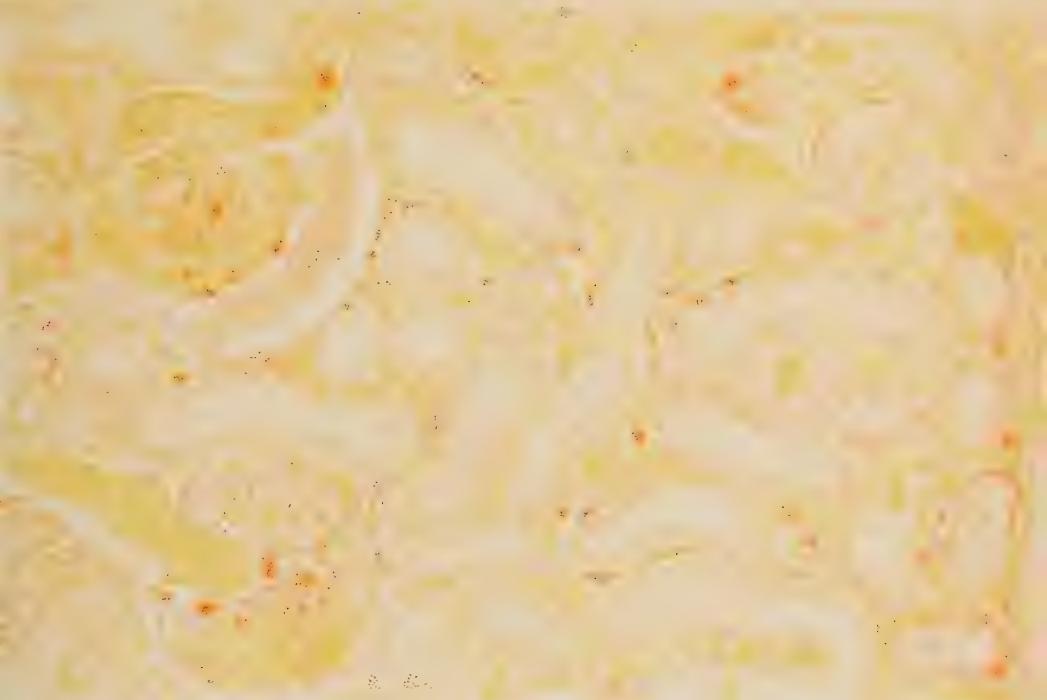
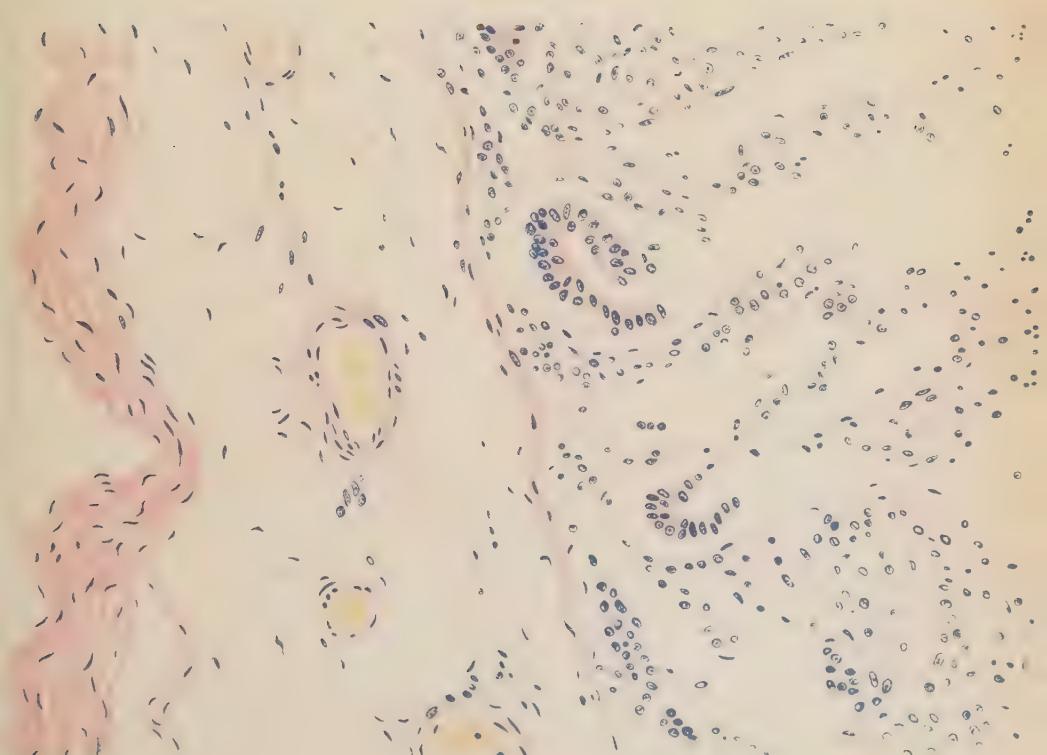


Fig. 4



REMARQUES SUR LA VIRULENCE

par M. NICOLLE et E. CÉSARI.

Virulence en général.

Lorsqu'une espèce, soit animale, soit végétale, mène (régulièrement ou avec fréquence) la vie parasitaire chez un organisme donné, cette espèce est dite virulente pour cet organisme. On n'emploie guère le mot « virulent » qu'en parlant des parasites microscopiques; mais, comme la transition entre eux et les « gros parasites » demeure insensible et qu'il s'agit bien, dans les deux cas, du même type d'existence, on doit généraliser, sans crainte, l'expression.

La virulence, telle que nous la définissons depuis longtemps, c'est la végétabilité *in vivo*. Il faut donc, immédiatement, ajouter ceci : quand une espèce croît, exclusivement, au sein de tissus que son poison a préalablement tués (*espèce purement toxigène*), elle ne saurait, en aucune manière, mériter le nom de virulente (ni même, strictement, celui de parasite, car elle est « saprophage » et rien autre). Faisons remarquer encore que le terme de virulence comporte un sens plus étroit que celui de pouvoir pathogène. Sont pathogènes, toutes les causes qui engendrent la maladie (telles que chaleur et froid excessifs, substances toxiques variées, etc.) et pas seulement les parasites.

Comment concevoir la virulence? Rien de plus facile, de loin, semble-t-il; rien de plus malaisé, en réalité, de près. Le parasite se développe chez l'hôte qui lui convient, parce qu'il y trouve au moins les matières indispensables à sa croissance (et, habituellement, à sa reproduction) et parce qu'il n'y rencontre point de conditions fondamentalement hostiles à la conservation de son individu (et, habituellement, de son espèce). Il va de soi que les circonstances favorables et défavorables se combinent, *in vivo*, de façon très diverse; aussi, la croissance du

parasite montre-t-elle tous les intermédiaires entre l'état précaire et l'aspect florissant.

Ce qui rend la question de la virulence si ardue, c'est, surtout, l'histoire même des parasites. Facultatifs et stricts, ils sont en nombre infini. Leur nature varie considérablement; protozoaires et protophytes, métazoaires et métaphytes, sexués ou non, ils offrent une évolution, tantôt simple, tantôt complexe (voire fort complexe). Ils accomplissent tout ou partie de leur existence chez les êtres vivants et, dans le premier cas, exigent un, deux et jusqu'à trois hôtes différents (quelquefois, deux organes successifs du même hôte); on conçoit que des cycles obligés compliquent beaucoup le problème que nous envisageons. Ajoutons, enfin, que les parasites habitent, suivant les circonstances, des cellules très diverses (superficielles ou profondes) et, souvent, chez les animaux, les liquides de l'organisme. Quelle diversité! Essayons, cependant, d'y voir un peu clair. Tout d'abord, la virulence présente, selon nous, deux aspects, qualitatif et quantitatif, qu'il convient de bien distinguer.

Aspect qualitatif de la virulence.

Nous étudierons trois cas, d'après la taille et le siège des parasites.

PREMIER CAS.

Quand le parasite (d'ordinaire gros) demeure réellement en dehors de l'économie, c'est-à-dire quand, libre ou fixé, il habite les surfaces (externe ou internes), ses localisations ordinaires pourront indiquer quels sont ses aliments obligés et quels sont les poisons auxquels il doit résister pour végéter *in vivo*. Les notions correspondantes apparaissent malheureusement aujourd'hui bien fragmentaires; il faut donc s'efforcer de les compléter; les migrations éventuelles constitueront des sortes de contre-épreuves fort précieuses. Dans certains cas, le parasitisme n'est pas constant pour l'espèce envisagée, mais comme, même alors, on ne saurait le créer et le supprimer sûrement par des moyens définis, ce côté de la question semble encore peu abordable.

SECOND CAS.

On peut faire les mêmes réflexions que précédemment, pour les substances nécessaires à la nutrition, quand le parasite, de dimensions supérieures aux dimensions des cellules de l'hôte,

plonge dans l'intimité de celui-ci; au regard des conditions défavorables, la manière de se comporter de ce parasite varie beaucoup. Chez les plantes, migrant ou fixe, il ne paraît guère avoir à redouter de l'organisme infesté qu'une nourriture insuffisante (soit qualitativement, soit quantitativement) et l'influence de divers composés, glucosides et alcaloïdes surtout, contre lesquels on tâchera de déterminer son mode et sa puissance de réaction (la question des anticorps végétaux doit être réservée actuellement). — Chez les animaux, l'économie peut, quelquefois, immobiliser le parasite, qui finit par mourir (enkysté); elle le tue rarement de façon directe. Les raisons de ces effets hostiles restent mal connues; il sied, cependant, de faire intervenir non seulement des substances toxiques, mais de véritables anticorps. Ce sont ces derniers qui mettent communément en branle le jeu des cellules de l'hôte, aboutissant à l'enkystement. Ajoutons que l'on est aussi peu maître que précédemment de créer et de supprimer à volonté le parasitisme, même dans des circonstances qui semblent assez favorables.

TROISIÈME CAS.

Reste l'histoire des parasites de dimensions égales et (surtout) inférieures aux dimensions des éléments de l'organisme envahi (on ne dira rien, bien entendu, des « virus invisibles »). Nous n'envisagerons ici que l'infection des animaux (supérieurs), seule susceptible de suggérer, peut-être, aujourd'hui, des idées nouvelles. Alors les parasites, tantôt se développent dans des cellules déterminées, tantôt siègent soit dans les liquides, soit dans certains éléments dits phagocytaires. De tous, ils sont les plus exposés aux anticorps. Par conséquent, la virulence, chez eux, se trouve liée non seulement à l'électricité en matière d'aliments (et à l'insensibilité en matière de produits nocifs concomitants), mais, surtout aussi, à l'indifférence au regard de ces anticorps. Avant de nous demander comment on peut concevoir cette dernière, voyons quelles particularités spéciales coexistent, éventuellement, avec la virulence et ont été parfois identifiées avec elle. Ces particularités ne concernent guère, actuellement, que les bactéries. — D'abord, l'abondance des cultures. Les vaccins (charbon, rouget, notam-

ment les premiers vaccins, apparaissent maigres, chétifs, comparés à la souche dont ils proviennent. Même différence pour d'autres microbes, la virulence accompagnant, disent certains, le développement riche *in vitro*. Mais un tel rapport n'offre rien de constant : loin de là. Ainsi, des pneumocoques, d'égale activité, montrent une croissance fort variable ; parmi les « hypervirulents », nous en avons vu de « misérables » (fragiles) et de « florissants » (robustes) ; quant aux échantillons peu virulents ou avirulents, ils fournissent, d'ordinaire, des récoltes très belles et résistent étonnamment aux agents physiques et chimiques. — On a signalé, pour le pneumocoque seul, la curieuse relation entre la virulence et la solubilité dans la bile (Neufeld). Effectivement, un pneumocoque insoluble n'est jamais virulent, tandis qu'un autre, soluble, le sera, communément, plus ou moins. Mais le cas reste isolé et sa signification énigmatique. — Divers auteurs, pour ce qui concerne le streptocoque et surtout la bactéridie charbonneuse, veulent voir, dans la formation des capsules, la cause de la virulence. En admettant (ce qui semble fort douteux) que « capsulogénèse » et « activité » marchent ici de pair, on se demandera s'il ne serait pas plus naturel de reconnaître, au contraire, dans la virulence, la cause de la formation des capsules. — Les fonctions chimiques et la sécrétion de toxine sont volontiers plus développés chez les individus actifs que chez les échantillons peu ou pas efficaces. Il n'y a cependant encore là rien de régulier. — Restent les caractères antigènes et le degré de sensibilité aux anticorps. Les recherches de M^{me} Raphael établissent que les pneumocoques les plus virulents possèdent le plus grand pouvoir et le plus grand domaine antigènes (c'est-à-dire engendrent les sérums les plus actifs et ceux dont l'activité déborde le plus le type auquel ils appartiennent) ; on voudrait posséder des indications aussi précieuses pour d'autres bactéries. Enfin, il existe un rapport fort net entre l'indifférence aux anticorps et la virulence ; ainsi, des germes, de groupes très variés, semblent d'ordinaire d'autant moins agglutinables, « lysables », phagocytables, qu'ils possèdent plus d'activité. Voilà *la seule* des particularités invoquées qui paraisse marcher réellement de pair avec la virulence.

Alors, on peut se faire le raisonnement suivant (d'ailleurs tout hypothétique, avouons-le). L'indifférence vis-à-vis des anticorps, qui assimile le parasite aux cellules de l'hôte, doit reconnaître le même motif que l'immunité connue de ces cellules, contre les « moyens d'attaque » de l'organisme qui les contient. Ainsi, un pneumocoque, virulent pour le lapin, tout en restant pneumocoque (et sécrétant une toxine, qui tue ce lapin), doit posséder, en plus des siens propres, des antigènes identiques à certains antigènes du lapin — et ces substances lui confèrent le pouvoir de ne pas être influencé par les humeurs et cellules de l'économie qu'il envahit. Plus généralement, tout germe, infectant une espèce E, renfermerait donc des antigènes communs avec ceux de E; ainsi que les éléments de E, il ne saurait fixer les anticorps de cette espèce et, conséquemment, se déroberait à la destruction, soit extra-, soit intracellulaire. Quand la virulence (que l'on vient de supposer maxima) décroît, l'insensibilité observée décroîtrait parallèlement, le germe devenant de moins en moins « espèce E » — et l'hôte se trouverait alors de moins en moins désarmé. Chacun sait que, de même, quand les cellules d'un organisme dégénèrent (ou vieillissent, telles les hématies), elles perdent, avec leurs constituants spécifiques, leur indifférence normale aux causes d'estructrices et leur disparition devient fatale. L'hypothèse que nous venons d'esquisser brièvement ne semble pas d'une démonstration facile; la complexité du sujet s'y oppose.

Pour notre troisième catégorie de parasites et notamment pour les bactéries, se pose la question des modalités expérimentales de la virulence. L'opinion courante veut que celle-ci puisse être augmentée ou diminuée (voire créée et abolie) aisément. En ce qui concerne la diminution, elle s'obtient, plus ou moins facilement, soit sous l'influence des agents physiques et chimiques, soit par les cultures successives *in vitro*. On rencontre cependant certains échantillons qui ne flétrissent pas volontiers; par exemple, l'un de nous n'a pu jadis, durant six ans, affaiblir une souche de streptocoque hypervirulente. Quant à l'abolition de toute activité, elle est assez souvent réalisée; son caractère définitif reste néanmoins indémontrable. — En ce qui concerne l'augmentation, que l'on dit si facile au moyen de « passages » *in vivo*, nous l'avons constatée bien peu fréquemment (malgré des centaines d'inoculations, poursuivies, depuis 1892, avec des microbes variés et sur des espèces animales diverses); dans les cas positifs, le « remontage » n'allait pas très loin et ne permettait point de tuer une espèce moins sensible que celle qui servait aux recherches. Quant à la transformation expérimentale de germes saprophytes en pathogènes, elle semble douteuse, si l'on y regarde de près (chez les plantes, E. Smith affirme ne l'avoir jamais obtenue). — Chose curieuse,

des pneumocoques, conservés au froid sans passages *in vivo* et repiqués rarement, nous ont présenté des augmentations de virulence aussi spontanées qu'inattendues. Plusieurs échantillons, inefficaces ou presque, sont devenus bien actifs après un nombre varié de mois. L'échantillon, que nous appelons A, virulent « au départ », s'est d'abord considérablement affaibli à la glacière (où, cependant, une telle baisse ne se produit pas d'ordinaire), mais, après un an, il était remonté de lui-même à sa puissance originelle; il s'y est maintenu quelques mois, pour retomber ensuite complètement et, depuis treize ans, reste toujours inactif. Tout cela démontre que le problème des variations de la virulence demeure très obscur et que les passages sont bien loin d'avoir la haute efficacité qu'on leur attribue communément.

Aspect quantitatif de la virulence.

La virulence n'offre pas que l'aspect qualitatif, envisagé jusqu'ici; elle présente aussi un aspect quantitatif, plus abordable et très important pratiquement. Cet aspect tient, tout entier, dans la notion de la dose mortelle minima (ou, mieux, de la dose active minima, car il est des parasites qui ne tuent jamais). Essentielle pour les êtres microscopiques, qui « fourmillent » chez l'hôte, cette notion cesse de posséder de l'intérêt et même d'avoir un sens net, lorsque les parasites augmentent de dimensions et diminuent de nombre. La virulence finit alors par se confondre avec son aspect qualitatif : on l'appelle simplement « électivité ». Nous demeurerons donc, pour ce qui suit, sur le terrain des « petits » parasites, spécialement des bactéries.

Il va de soi que la dose minima (nous la supposerons mortelle, afin de bien fixer les idées) constitue la seule mesure légitime de la virulence. Pour une espèce sensible, elle peut varier considérablement, suivant les échantillons du microbe étudié. Parfois un seul germe amène la mort, comme le montrent des numérations parallèles *in vitro* ou l'inoculation directe de ce germe, réalisée, si habilement, par Barber. Ailleurs, il faut accroître progressivement la quantité (évaluée en volume de culture liquide ou en poids de corps microbiens — avec les

humeurs infectées, le titrage devient peu exact), si l'on veut réussir sûrement. Arrive une dose, variable selon la nature du parasite, pour laquelle intervient la toxicité de celui-ci; c'est-à-dire que, morts ou vivants, les germes donnent des résultats analogues. On se trouve alors arrêté (nous supposons l'espèce la plus sensible) et nul ne saurait dire où en est la virulence : pratiquement, elle est évanouie. — Dans le cas inverse, lorsque plusieurs germes tuent à l'unité, comment deviner si l'un d'eux l'emporte sur les autres? On peut se proposer de recommencer la recherche, avec des sujets vaccinés au même degré : expérience difficilement réalisable. On peut aussi utiliser une espèce plus résistante : c'est ce qui se fait couramment; mais, au fond, le procédé ne vaut rien, car il introduit un facteur qualitatif, donc numériquement intraduisible. Concluons que la mesure de la virulence demeure limitée quand elle descend trop bas et quand elle monte trop haut; l'échelle dont nous disposons varie beaucoup, suivant la nature des microbes : chacun le sait.

Virulence et résistance.

Le terme *virulence*, isolé, n'offre aucun sens : il convient de noter, constamment, chez quel sujet, en particulier, le parasite se montre capable de vivre. On sait que des parasites, inoffensifs pour les individus normaux d'une espèce, peuvent envahir les animaux affaiblis de la même espèce (quelle que soit la cause de l'affaiblissement) ; inversement, des parasites, pathogènes pour des individus normaux d'une espèce, peuvent devenir inoffensifs pour les individus résistants de la même espèce (quelle que soit la cause de cette résistance). Il n'existe donc point de virulence absolue et, afin de s'entendre, on devra toujours rapporter les effets observés à des sujets de telle ou telle espèce, dont l'âge, le sexe, le poids et l'état de santé seront nettement spécifiés.

La *sensibilité* des animaux possède la même mesure que la *virulence* (nous parlons, encore ici, des parasites microscopiques) ; la *résistance*, condition inverse de la sensibilité, s'exprimera, logiquement, par l'inverse de cette mesure. On ne titrera pas, d'ordinaire, la résistance des sujets normaux : rien

n'est, cependant, plus instructif; mais on titre celle des sujets immunisés (activement ou passivement), dans toute recherche précise.

Voici comment nous pensons qu'il faut exprimer, numériquement, les résultats des divers titrages. S'il s'agit soit de virulence, soit de sensibilité, on aura avantage à choisir le contraire de la dose mortelle *minima*: par exemple, quand celle-ci représente au moins $1/100$ de cent. cube de culture liquide ou $1/100$ de centigramme de corps microbiens (le cent. cube ou le centigramme étant pris comme unité), on énoncera que soit la virulence, soit la sensibilité, ont la valeur 100. S'il s'agit de résistance, on indiquera, simplement, la dose *maxima* que supporte l'animal: par exemple, quand il tolère au plus $1/100$ (de cent. cube ou de centigramme), on énoncera que la résistance a la valeur $1/100$.

Le Gérant : G. MASSON.